

Національний університет біоресурсів і природокористування України

В.І.Шеремета

Підвищення ефективності методу трансплантації
ембріонів великої рогатої худоби

Київ – 2014

УДК 636:[591.3616-089.843]

Автор В.І.Шеремета

Способи підвищення ефективності методу трансплантації ембріонів великої рогатої худоби

Анотація

Рецензенти:

Академік УААН, професор, доктор біологічних наук В.Г.Герасименко

Чл.-кореспондент УААН, доктор біологічних наук, професор В.А.Яблонський

Доктор біологічних наук О.Д. Бугров

Зміст

ВСТУП.....	4
1. ВПЛИВ ЕНДОГЕННИХ ТА ЕКЗОГЕННИХ ФАКТОРІВ НА ВИХІД ПРИДАТНИХ ЕМБРІОНІВ У КОРИВ-ДОНОРІВ	5
2. ПРИЖИВЛЮВАНІСТЬ ЕМБРІОНІВ У ТЕЛИЦЬ-РЕЦИПІЄНТІВ ЗАЛЕЖНО ВІД ЕНДОГЕННИХ ФАКТОРІВ.....	29
2.1 Значення функцій жовтого тіла яєчників реципієнтів для результативності трансплантації ембріонів.....	29
2.2 Приживлюваність ембріонів залежно від метаболічного стану реципієнтів.....	38
2.3 Природна резистентність реципієнтів та приживлюваність ембріонів.....	59
2.4 Визначення залежності між швидкістю росту та приживлюваністю ембріонів у реципієнтів.....	66
2.5 Приживлюваність ембріонів залежно від генотипу реципієнтів за трьома системами поліморфних білків.....	72
3. СПОСОБИ СТИМУЛЯЦІЇ ПРИЖИВЛЮВАНІСТІ ЕМБРІОНІВ У ТЕЛИЦЬ-РЕЦИПІЄНТІВ.....	76
3.1 Корекція раціонів реципієнтів балансуванням мікроелементами.....	77
3.2 Вплив препарату “Глютам” на біохімічний склад крові телиць-реципієнтів.....	80
3.3 Зміни в репродуктивній системі телиць-реципієнтів після введення “Глютаму”	89
4. КОРЕЛЯЦІНІ ЗВ’ЯЗКИ МІЖ ЧИННИКАМИ, ЯКІ ЗУМОВЛЮЮТЬ ЕФЕКТИВНІСТЬ МЕТОДУ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ ЕМБРІОНІВ.....	101
5. НА ЗАКІНЧЕННЯ.....	114
Список використаних джерел.....	132

ВСТУП

Інтенсифікацію тваринницької галузі, особливо скотарства, в значній мірі зумовило впровадження в практику біотехнологічних методів відтворення - штучного осіменіння, трансплантації ембріонів та інших. Ефективність трансплантації ембріонів як методу інтенсивного розмноження цінних материнських генотипів, в першу чергу, залежить від біологічної повноцінності ембріона, морфофізіологічного стану організму реципієнта та донора, зокрема їх репродуктивних органів. Загальним для обох названих біотехнологічних методів відтворення є пошук оптимальних для осіменіння та трансплантації ембріонів характеристик морфофізіологічного стану самки.

Відомо, що доместикаційні процеси та інтенсивна селекція тварин у напрямку підвищення молочної або м'ясної продуктивності негативно позначаються на функції відтворення, в значній мірі на яку впливають і екзогенні фактори. Серед них найбільшу роль відводять рівню та якості годівлі. Тим часом зовсім недостатньо вивчено феномен приживлюваності ембріонів залежно від генотипів донора і реципієнта, обмінних процесів, природної резистентності та інтенсивності росту організму самки, а також впливу морфологічного стану жовтого тіла, функціональної активності нейроендокринної регуляції і транспортної системи забезпечення анаболічних та метаболічних процесів у репродуктивних органах. Недопустимим є неврахування кореляційних зв'язків між ними під час статевого циклу, окремого та комплексного впливу біологічно активних речовин (мікроелементів, вітамінів, певних амінокислот, екзогенних гормонів та природних сорбентів). Велика мінливість ефективності використання в регуляції відтворної функції тварин гормональних препаратів вимагає подальших розробок способів корекції обмінних процесів і регулюючих систем в організмі самиць за рахунок застосування біологічно активних препаратів та ефективніших схем введення гормонів. Пошук недорогих біологічно активних речовин, які б займали чітко виражене місце в обмінних процесах, пов'язаних з

регуляцією відтворної функції, зумовив створення препарату "Глютам" та дослідження його впливу на приживлюваність ембріонів у реципієнтів і вихід придатних зародків у донорів, на морфобіохімічний стан статевої системи і організму тварини як системи.

Низька індивідуальна чутливість донорів до екзогенних гормонів та велика варіабельність рівня приживлюваності ембріонів після першого осіменіння чи пересадження зобов'язують до пошуку способів прогнозування ефективності цих методів у плані визначення технологічних строків та відбору тварин. Поряд з цим, вивчення впливу ендогенних та екзогенних факторів на вихід придатних ембріонів та розробка способів корекції обмінних процесів в організмі донорів з метою отримання більшої кількості придатних до пересадження ембріонів актуальне не лише в плані удосконалення методу трансплантації та селекційної доцільності, а й важливе економічно.

Тиск інтенсивності селекційного процесу та мінливість екологічних умов, що позначаються на реактивності організму тварин, зумовлюють необхідність досліджень, спрямованих на подальший розвиток теорії біології відтворення. З огляду на сказане, цілком своєчасним є теоретичне та експериментальне обґрунтування впливу ендогенних та екзогенних факторів на приживлюваність ембріонів у самок великої рогатої худоби і розробка біотехнологічних способів, які забезпечують підвищення ефективності трансплантації ембріонів.

1. ВПЛИВ ЕНДОГЕННИХ ТА ЕКЗОГЕННИХ ФАКТОРІВ НА ВИХІД ПРИДАТНИХ ЕМБРІОНІВ У КОРІВ-ДОНОРІВ

Сучасний розвиток ендокринології та практичне втілення наукових розробок цього напрямку досліджень дозволили отримати нові гормональні препарати - аналоги за дією в організмі тварин нативним гормонам. Для біології відтворення, і особливо методу трансплантації ембріонів, дуже важливим було вивчення морфофункціональних змін у статевій системі під дією простагландину $F_{2\alpha}$, розшифрування хімічного складу та синтез його аналогів у

виробничих умовах. Біологічною основою суперовуляції є стимуляція екзогенними та ендогенними гонадотропними гормонами більшої кількості дозрівання фолікулів, що ростуть до Граафових та їх овуляція. Існує декілька схем індукції суперовуляції. Досить поширені схеми, які поєднують у собі використання гонадотропних гормонів разом з препаратами-аналогами простагландину $F_{2\alpha}$ (ПГ). Серед гонадотропних гормонів розрізняють дві групи: препарати фолікулостимулюючого гормону (ФСГ), що виділені з гіпофіза свиней, та гонадотропін, отриманий шляхом ліофільного висушування сироватки кобил, відібраної на 90-140-й день жеребності.

Препарати групи ФСГ (ФСГ_п, ФСГ_с, фолікотропін, фолітропін, грофолон та інші) вводять внутрішньом'язово на 8-12-й день статевого циклу, впродовж 3-5 днів з 12-годинним інтервалом у загальній дозі 32-50 мг, або одиниць Аморі (1 мг = 1 одиниці Аморі). У цьому разі від початку обробки дозу препарату в кожній ін'єкції поступово зменшують. Наприклад, при 4-денній схемі обробки загальну дозу ФСГ- 50 мг - розводять у 14 мл фізіологічного розчину і ділять на окремі дози, які відразу використовують або заморожують. Розморозувати необхідно один раз. Часті заморожування та розморозування призводять до втрати препаратом активності, яку в дозі регулюють об'ємом згідно зі схемою гормональної обробки донора (табл. 1).

1. Схема введення ФСГ коровам-донорам, мл

День статевого циклу	Ранок	Вечір	Всього
10	2,5	2,5	5
11	2,0	2,0	4
12	1,5 + ПГ	1,5	3
13	1,0	1,0	2

Примітка: ПГ - аналог простагландину $F_{2\alpha}$

Тривале введення дрібними дозами препаратів групи ФСГ пов'язане з тим, що їх напіврозпад складає 6 годин і в печінці донорів через 12 годин вони інактивуються, руйнуються і виводяться з організму. Тому, для підтримання в крові певного рівня екзоген-ного ФСГ треба вводити в організм тварини його строго з інтервалом 12 годин.

Препарати групи ГСЖК (гонадотропін, фолігон, прегмагон та інші) вводять внутрішньом'язово однократно у дозі 2000-5000 І.О. на 10-14-й день статевого циклу. Рівень суперовуляції залежить від дози препарату. Але при високому рівні овуляції поряд із збільшенням виходу яйцеклітин підвищується кількість ембріонів, непридатних до пересадження, а придатних майже не зростає. У більшості випадків ГСЖК використовується в дозі 2000-3000 І.О. За рахунок наявності в препаратах групи ГСЖК сілових кислот ці гонадотропіни не руйнуються в печінці і тривалий час залишаються в крові, що створює несприятливі умови для запліднення яйцеклітин та розвитку ембріонів. Через те, для збільшення виходу придатних ембріонів при стимуляції поліовуляції ГСЖК використовують сироватку з антитілами до СЖК.

Отже, з 8 по 14-й день статевого циклу у корів-донорів за допомогою екзогенних гонадотропних гормонів стимулюють фолікулогенез, внаслідок якого фолікули, що ростуть, перетворюються в Граафові, та дозрівають яйцеклітини. Для їх овуляції, як відомо, необхідний пік ЛГ, який в цей період статевого циклу неможливий через пригнічення його виділення з гіпофіза під впливом значного рівня в крові концентрації прогестерону. Регресію жовтого тіла, а значить і зниження концентрації в крові прогестерону, викликають препаратами - аналогами гормону простагландину $F_{2\alpha}$ (естрофан, ремофан, еструмат, аніпрост, клатропростин, ензапрост та інші). Їх вводять внутрішньом'язово в дозі 500-750 мг клопростенолу через 48 годин після ін'єкції ГСЖК або на 3-4-й день обробки ФСГ однократно в дозі 500 мг або двократно вранці 500 та ввечері 250 мг клопростенолу. Після введення препарату статеві охота у донорів настає через 36-72 години.

Осіменяють донорів 2-3 рази ректо-цервікальним способом подвійною дозою сперми: у дозі 15 млн сперміїв з прямолінійно-поступальним рухом (ППР). Сперму вводять у тіло матки. Ф.І. Осташко із співавторами [1] з метою збільшення кількості запліднених яйцеклітин та поліпшення якості ембріонів рекомендують починати осіменяти донорів через 48-50 годин після обробки ПГ з інтервалом 22-24 годин і припиняти його за 94-96 годин до вимивання, причому на кожне осіменіння використовувати сперму з кількістю у дозі 6-10 млн. сперміїв із прямолінійно-поступальним рухом.

На 7-8-й день після першого осіменіння (нульовий день статевого циклу) проводять вимивання ембріонів хірургічним або нехірургічним способом.

Відлік днів статевого циклу починають із нульового, за який приймається день, коли відбувається овуляція, але оскільки її візуально виявити не можна, то початковим вважають день появи статевої охоти, яку визначають за рефлексом нерухомості. Стимулюючи суперовуляцію у корів-донорів за згаданими вище гормонограмами, ми фактично від одного до трьох разів перериваємо перебіг фізіологічного статевого циклу. Крім того, збільшення чисельності фолікулів передовуляційного стану та їх овуляція для донора в певній мірі є стресовою ситуацією, яка через змінений морфофункціональний стан репродуктивної системи та всього організму в цілому впливає на вихід придатних ембріонів.

1.1 РІВЕНЬ СУПЕРОВУЛЯЦІЇ ПІД ЧАС ЗАСТОСУВАННЯ ГОНАДОТРОПНИХ ПРЕПАРАТІВ ГРУПИ ФСГ

Процеси доместикації значно змінили пристосованість сільськогосподарських тварин до чинників оточуючого середовища, що називають екзогенними, і від багатьох із яких людина не може їх цілком захистити. Екзогенні фактори впливають на вихід придатних ембріонів опосередковано - через ендогенні фактори, в першу чергу, порушенням в організмі донорів обмінних процесів, які зумовлюють негативні зміни в нейроендокринній регуляції статевого циклу

і морфофункціональному стані репродуктивних органів, що полягають у порушенні розвитку та зниженні приживлюваності зародків. Серед чинників, які впливають на результативність індукції поліовуляції, виділяють [2]: відтворювальну здатність донора, здоров'я його статевої системи та стан обміну речовин, а також організацію відтворення та контролю еструса. За нормальної відтворювальної здатності отримують в середньому 2,88 придатного ембріона від одного донора і по 1,41, якщо її порушено.

У досліді, що був проведений нами у ВАТ "Племзавод Бортничі" [3], суперовуляцію стимулювали в 28 корів-донорів, з яких 14,3% (4 гол.) не прореагували на введення екзогенного гонадотропного гормону поліовуляцією. Для визначення залежності виходу придатних ембріонів від рівня суперовуляції та обмінних процесів імунобіохімічні показники крові донорів, отриманої на 10-й та 0 (14)-й день статевого циклу, були рознесені в різні класи, враховуючи кількість овуляцій на яєчниках, з інтервалом 5.

У крові донорів, які не прореагували суперовуляцією, вміст загального білку, його фракцій, сечовини, ліпідів та каротину був майже таким як у особин, що були віднесені до класів з різним рівнем показників поліовуляції. Різниця спостерігалась тільки за кількістю глюкози, якої було більше ніж у класах з високим рівнем поліовуляції на 32 ($P < 0,05$); 20,8; 19,9 і 24,7 %, що не перевищувало фізіологічної межі, та за бактерицидною активністю крові, яка була менша на 21,4; 18,5 і 4,7 %.

Із збільшенням рівня поліовуляції у корів-донорів спостерігалась тенденція зростання виходу придатних ембріонів, за винятком таких, що мали 8-12 овуляцій. Від них одержали вірогідно менше ($P < 0,001$) придатних ембріонів, ніж від донорів класів з більшою кількістю овуляцій. Аналіз імунобіохімічних показників показав, що в крові останніх була менша концентрація білку на 8,2 % ($P < 0,01$), 6,2 %, сечовини на 37,4 % ($P < 0,001$), 43,7 % ($P < 0,05$) та γ -глобулінів на 4,8 %, 5,0 % і нижча бактерицидна активність крові на 33,4 % ($P < 0,001$), 19,6 % ($P < 0,05$) порівняно з тваринами класів з

більшою кількістю овуляцій (13-17, 18-22). Важливо зазначити, що ці особливості поєднані із вірогідно ($P < 0,05$) більшим рівнем у крові альбумінів, що як відомо, є неспецифічними носіями естрогенів. Отже, високий рівень альбумінів у крові цих тварин можна пов'язати з рівнем естрогенів, які у свою чергу і спричинили певні імунобіохімічні зміни в крові донорів та негативно вплинули на якість ембріонів. Тим більше, що у таких донорів після гормональної обробки екзогенним ФСГ відбулися лише незначні кількісні зміни досліджуваних складників крові, тоді як у тварин з більшою кількістю овуляцій вірогідно знизився вміст сечовини та спостерігалась тенденція зростання концентрації глюкози. Виявлені зміни в білковому обміні та зниження природної резистентності крові донорів на 10 та 14-й дні статевого циклу не вплинули на рівень суперовуляції, спричинили зменшення виходу придатних для пересадження ембріонів.

Згадані дослідження показали, що обробкою донорів ФСГ із 10-го дня статевого циклу, яка змінює рівень імунобіохімічних показників крові в певних межах (БАК - 60 - 80%; білок без змін або трохи більше 90 г/л; альбуміни не більше - 38%; γ -глобуліни - 28-36%; сечовини не менше 4 ммоль/л і відношення альбумінів до глобулінів не більше - 0,65), можна при суперовуляції одержати до 22 овуляцій фолікулів та придатних до пересадження ембріонів у середньому від 2,3 до 10,4.

Відсутність жовтого тіла на яєчнику тварини після статевої охоти – свідчення перебігу ановуляторного циклу, а значить і неможливості стимуляції поліовуляції. Тому у донорів перед обробкою ФСГ проводять ректальні дослідження яєчників для виявлення жовтих тіл, розмір яких певною мірою пов'язаний з функцією. З огляду на це, актуальним є визначення ступеня взаємозв'язку морфологічної оцінки жовтого тіла яєчника з імунобіохімічними складниками крові донорів та впливу рівня останніх на вихід придатних ембріонів.

З цією метою нами в ВАТ “Племзавод Бортничі” був проведений дослід в якому в першу чергу оцінювали морфологію жовтих тіл яєчників 23 корів-донорів на 10-й день статевого циклу методом ректального дослідження.

Першу групу (n=7) сформували з донорів, які мали жовті тіла з верхівкою над поверхнею яєчника висотою до 0,5 см (+), другу (n=9) - від 0,5 до 1 см (++). Донорів, у яких жовті тіла були на правому та лівому яєчниках, відібрали в третю групу (n=5).

Порівняльний аналіз показників суперовуляції засвідчив, що у донорів II групи при вищій на 38,2% (P<0,1) суперовуляції вихід придатних для трансплантації ембріонів був таким, як і в I групі. Від них було одержано вірогідно (P<0,05) більше дегенерованих ембріонів та у 7 разів більше яйцеклітин, що є підставою вважати такі умови для запліднення та розвитку зигот несприятливими. У корів-донорів, які мали жовті тіла на обох яєчниках, вимили більше на 20,5 та 19,2% придатних ембріонів, ніж у I та II групах. За кількістю дегенерованих ембріонів та яйцеклітин ця група зайняла проміжне положення (табл.2).

На 10-й день статевого циклу у донорів II групи рівень γ -глобулінів та БАК були меншими відповідно на 7,33 (P<0,1) та 27,2% (P<0,05), ніж у тварин I групи, а концентрація альбуміну та альбуміно-глобуліновий коефіцієнт були більшими на 8,82 (P<0,05) та 14,79% (P<0.01) порівняно з III групою.

Отже, у донорів з більшою верхівкою жовтого тіла на 10-й день статевого циклу виявлені знижена природна резистентність організму та збільшений рівень

2. Рівень суперовуляції та вихід ембріонів у позитивних донорів, шт.

Об'єкт дослідження	Група, M±m		
	I (+), n=7	II (++), n=9	III, n=5
Жовті тіла	12,57±2,67*	20,33±2,48*	19,0±2,21
Ембріони і яйцеклітини	8,42±2,47	13,86±3,13	13,60±3,40
Ембріони: придатні	7,00±2,23	7,11±2,05	8,80±2,54
задовільні	1,00±0,43	1,55±0,66	2,20±1,40

дегенеровані	0,14±0,14*	3,20±1,40*	2,20±1,40
Яйцеклітини	0,28±0,28	2,00±1,10	1,40±1,20

Примітка. * P<0,05.

нь альбумінів у крові негативно вплинули на життєздатність ембріонів. У крові донорів III групи була вища концентрація загального білку на 5,3 6,4%, менше на 16,6 21,4% (P<0,05) альбумінів і на 24,6 30% (P<0,01) нижчий альбуміноглобуліновий коефіцієнт, ніж у тварин I та II груп відповідно. У дослідних донорів після введення ФСГ та простагландину не спостерігали вірогідних змін імунобіохімічних показників крові, за винятком тварин III групи, у яких вірогідно (P<0,05) збільшився рівень глюкози. Наведені дані свідчать, що при суперовуляції для нормального розвитку ембріонів в організмі донора велике значення мають обмінні процеси як білків, так і вуглеводів.

Таким чином, у донорів, що на 10-й день статевого циклу мають на яєчнику жовті тіла, верхівка яких виходить над його поверхнею не вище як на 1 см, можна отримати в середньому до 20 овуляцій. При цьому вихід придатних для трансплантації ембріонів залежить від процесів обміну білків, вуглеводів та природної резистентності корів-донорів. Донори, в яких у цей день на обох яєчниках виявлені жовті тіла, мали такий рівень обмінних процесів, який дозволив отримати внаслідок гормональної стимуляції суперовуляції на 20% більше придатних ембріонів, тобто метаболічна ситуація у таких самиць більш сприятлива для утворення повноцінних яйцеклітин та раннього ембріогенезу.

Практика стимуляції суперовуляції у корів-донорів показала, що до 30% тварин не реагують на введення екзогенних гонадотропних гормонів, а у тих, що прореагували, вдається вимити лише 60-70% яйцеклітин та ембріонів [4].

Серед екзогенних факторів, які впливають на вихід придатних ембріонів у донорів під час стимуляції суперовуляції, в першу чергу, слід назвати якість кормів, тип та рівень годівлі. Однак відмічено [5], що профілююча роль за впливом на результативність суперовуляції у донорів належить гонадотропним

гормонам: їх типу, активності, дозі, якості та своєчасності початку обробки ними тварин.

Якість гонадотропного гормону визначає дозу препарату, необхідну для одержання певного рівня суперовуляції. Цілком можливо, що незначні порушення або зміни в технології виготовлення гонадотропних гормонів призводять до втрати ними необхідних властивостей, а це може впливати на вихід придатних ембріонів під час індукції поліовуляції у корів-донорів. З огляду на це, мета наших досліджень полягала в перевірці впливу гонадотропного гормону на рівень суперовуляції та морфологічні зміни яєчників. Для цього як модельні тварини були використані миші. Поставлена мета досягалась шляхом випробування двох серій А та В ГСЖК, несхожих за елементами технології виготовлення.

Гістологічні дослідження показали, що ці гонадотропні препарати, які вивчались, у дозі 10 І.о. спричинили реакцію, що проявилась вірогідним збільшенням кількості жовтих тіл у яєчниках дослідних тварин порівняно з контролем, тобто спостерігали переконливе виникнення суперовуляції. Препарат серії В виявився ефективнішим і, використавши його, одержали внаслідок суперовуляції придатних для трансплантації ембріонів більше на 15 % та на 33,4 %, ніж при спонтанній овуляції та після застосування препарату серії А (табл.3).

3. Вплив серії ГСЖК на кількість і якість ембріонів при суперовуляції у мишей, $M \pm m$

Об'єкт дослідження	Суперовуляція з використанням ГСЖК, серія :		Спонтанна Овуляція (n=10)
	А (n=10)	В (n=11)	
Жовті тіла, шт.	14,5±0,9*	14,9±0,2*	6,5±0,1*
Ембріони, шт.	13,5±3,9	19,0±5,2	11,6±0,8
у т.ч. придатні до пересадження	6,6±2,6	11,4±3,8	9,9±1,4
дегенеровані та яйцеклітини	6,9±2,6	7,6±2,4	1,7±0,9

Примітка *P<0,001

Слід відмітити, що при використанні ГСЖК серії В та в контролі мала місце, на нашу думку, поліовуляція фолікулів, про що зазначалось раніше [6].

У самиць, ін'єктованих ГСЖК серії В, була менша кількість фолікулів, які ростуть, та переважна кількість фолікулів з лютеліальною атрезією, чому, очевидно, сприяв нижчий вміст естрогенів. Це і зумовило, мабуть, більший вихід придатних до пересадження ембріонів, втрату яких провокує надмірна кількість названих гормонів під час суперовуляції.

Отже, морфологічні дослідження та дані щодо кількісного і якісного складу одержаних ембріонів є підставою вважати, що якість ГСЖК, впливаючи на морфологію та фолікулогенез яєчників, призводить до змін у ембріогенезі, а це в свою чергу позначається на виході придатних ембріонів внаслідок індукції поліовуляції. Тож, при проведенні досліджень, пов'язаних з стимуляцією суперовуляції, слід у дослідних групах використовувати гонадотропні гормони однієї серії і мати на увазі цю особливість препаратів у практичній роботі.

Для вивчення можливості усунення негативного впливу гонадотропіну серії А на вихід придатних ембріонів під час індукції суперовуляції у самиць мишей в схему їх обробки був включений антисергон (ліофілізована до СЖК антисироватка кіз), яку ін'єктували разом з хоріонічним гонадотропіном людини в дозі 10 І.о. Було отримано досить переконливий результат: на гормональну обробку за звичайною схемою реагувало 70 % тварин, а при використанні антисергону 100%. Також встановлено, що використанням у схемі гормональної обробки тварин антисергону вірогідно збільшили на 62,8 та 54,9% вихід придатних ембріонів порівняно з тваринами, яким вводили препарат серії А, та контрольної групи (табл.4.). Подібні результати були, коли для суперовуляції у корів-донорів використали антисироватку СЖК [7], що зумовило отримання більше на 1,2 придатного ембріона в середньому і на 0,7% вище їх приживлення.

Вивчення маси внутрішніх органів піддослідних мишей виявило зміни у деяких з них. Найвиразніше реагувала на гормональну обробку селезінка. Так, у тварин, яким вводили препарат серії А + ХГЛ і те ж саме + антисергон, її маса

була більшою відповідно на 50,3 мг ($<0,01$) і 106,9 мг ($P<0,001$) порівняно з тваринами контрольної групи. Можливо, це пояснюється функцією селезінки, яка є активним у імунному відношенні органом, її реакцією на чужорідні білкові антигени - гормони.

Отже доведено, що шляхом використання антисироватки можна збільшити вихід придатних ембріонів при застосуванні для стимуляції поліовуляції у самиць ГСЖК.

Порушення перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) внаслідок зміни в процесах ліпідного або вітаміно-мінерального обміну, отруєнь, стресів призводить до розвитку патологічних процесів у організмі тварин. Інтенсифікація ПОЛ спричинює появу гідроперекисей, які зумовлюють пору-

4. Рівень суперовуляції у самиць мишей та маса внутрішніх органів при різних схемах гормональної обробки,

M±m

Об'єкт дослідження	Суперовуляція з використанням ГСЖК серій		Індукція суперовуляції ГСЖК серії А + антисергон (n=10)	Спонтанна овуляція, контроль (n=12)
	А (n=10)	В (n=11)		
Тварин з суперовуляцією	7 (70,0%)	10 (90,9%)	10 (100%)	-
Всього ембріонів, шт	13,5±3,9	19,0±5,2	23,7±3,6**	10,2±1,2
у т.ч. придатних до пересадження,	6,6±2,6	11,4±3,8	17,7±2,9**	8,0±1,4
дегенерованих та яйцеклітин	6,9±2,6	7,6±2,4	6,0±1,7	2,2±0,8
Жива маса, г	31,3±0,9	31,4±1,1	31,0±1,0	33,6±0,6
Нирки, мг	421,8±13,0	466,6±16,0	457,0±19,0	477,6±15,0
Печінка, мг	1966,6±46,0	1908,3±117,0	2031,0±89,0	1984,5±45,0
Селезінка, мг	194,8±10,0***	171,1±16,0	251,4±15,0***	144,5±12,0
Внутрішній жир, мг	1220,0±93,0	1123,0±126,0	1170,0±60,0	1122,0±71,0

Примітка: * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001, порівняно з контролем

шення проникності мембран і їх структури, ураження численних органів [8, 9], що викликає патологічні зміни обмінних процесів, які під час суперовуляції негативно впливають на якість та запліднюваність яйцеклітин у донорів.

Встановлено [10], що глибина порушень обмінних процесів у організмі тварин залежить від насиченості крові анізотропними включеннями ліпідів високої щільності (ЛПВЩ). Для ліквідації токсикозів, спричинених кінцевими продуктами ПОЛ, і нормалізації ліпідного обміну рекомендується використовувати антиоксиданти: вітаміни, мікроелементи, гіпосульфат натрію тощо. Останній має антитоксичні і протизапальні властивості, стимулює функції ендокринної системи, відновлює білки, нормалізує їх стан [11, 12]. Це дало підставу припустити, що використання гіпосульфату натрію при гормональній обробці донорів сприятиме нормалізації обмінних процесів і збільшенню виходу придатних ембріонів.

З метою вивчення цієї проблеми нами у 23 корів-донорів, з молочною продуктивністю 8-14 тис. кг молока на рік було досліджено патологічний стан обмінних процесів за методикою [13], яка ґрунтується на визначенні в крові тварин анізотропних включень ліпопротеїдів високої щільності. Так, у 13% (3 гол.) донорів анізотропні включення крові були на рівні 4 балів, 78,3% (18 гол.) - 3 балів та у 8,7% (2 гол.) - 2 балів, що свідчило про їх патологічний стан. Для нормалізації обмінних процесів їм вводили внутрішньовенно стерильний, опромінений ультрафіолетом 20%-й гіпосульфат натрію в дозі 40 мл у нульовий день статевого циклу, який визначили (дослідна група) після другої синхронізації статевої охоти клатропростином (3 мл). У контрольних та дослідних донорів ступінь патологічного стану організму визначали перший раз до синхронізації статевих циклів, а другий раз - на 7-й день після введення антиоксиданту. Обробку їх ФСГ здійснили через два дні. Ембріони вимивали на 8-й день статевого циклу.

У цьому дослідженні було доведено, що середній бал, який характеризує патологію обмінних процесів, у дослідних донорів був більшим на 18,2 та 68,7% ($P < 0,05$) порівняно з контролем до синхронізації і на 7-й день статевого

циклу відповідно. У той же час рівень суперовуляції та вихід придатних ембріонів у них були невірогідно меншими, відповідно на 18,9% та 62,3% проти контрольних донорів. Тобто, введення опроміненого гіпосульфїту натрію не викликало в організмі донорів змін стану обмінних процесів, які спричинюють негативний вплив на якість ембріонів. Але більший вихід придатних ембріонів у контрольних донорів при меншому показникові стану патологічних обмінних процесів свідчить про зв'язок між цими явищами (табл.5).

5. Рівень суперовуляції та вихід придатних ембріонів у донорів з різним ступенем патології обмінних процесів в організмі

Донор, інд №	Бал		Жов- тих тіл, шт	Кількість ембріонів, шт	
	до введення препарату	після введення препарату		придатних	непридатних
Контроль 155	2	1	3	1	1
1697	3	2	11	7	0
1140	3	1	13	8	0
M±m	2,7±0,3	1,3±0,3*	9,0±3,0	5,3±2,2	0,3±0,3
Дослід 112	3	2	15	5	1
7485	4	4	3	1	1
2642	3	3	4	0	0
M±m	3,3±0,3	3,0±0,6	7,3±3,8	2,0±1,5	0,67±0,3

Примітка *P<0,05

З метою в'яснення тривалості дії гіпосульфїту натрію на організм тварин в учгоспі "Великоснітинський" в кінці травня був проведений інший дослід на 10 нетільних коровах, в яких у крові були виявлені анізотропні включення ЛПВЩ. Підготовка тварин та введення препарату була аналогічною з попереднім дослідом. Виявилось, що у дослідних та контрольних тварин через 24 та 72 години середній бал анізотропних включень ЛПВЩ знизився, що можливо пояснюється годівлею зеленим кормом, який вперше почали згодовувати ввечері після введення препарату. У той же час середній бал ступеня

патологічного стану обмінних процесів у організмі дослідних корів через 24 та 72 години після введення гіпосульфату натрію був відповідно більшим на 22,3% та 80%, ніж у контрольних тварин. Така різниця в показниках дає можливість припустити, що на фоні введеного 20%-вого гіпосульфату натрію дія інших антиоксидантів зменшується.

Таким чином, на вихід придатних ембріонів у донорів впливає стан обмінних процесів у останніх, визначений кристало-оптичним способом на підставі якісної і кількісної характеристики анізотропних включень ЛПВЩ. Однократне введення внутрішньовенно коровам опроміненого ультрафіолетом 20%-вого гіпосульфату натрію в дозі 40 мл не нормалізує стану обмінних процесів в їх організмі.

Для розробки способів збільшення виходу придатних до пересадження ембріонів після індукції суперовуляції у корів-донорів важливо встановити причину, яка негативно впливає на цей показник. На сьогодні, в умовах України, таким чинником може бути хронічний радіаційний вплив на організм тварин, зокрема на відтворювальну здатність і самиць, і самців. Встановлено, що у самців спермогонії найбільш радіочутливі клітини, а у самиць - первинні ооцити на стадії диплотеми та зрілі ооцити [14]. Виявлено [15], що радіаційне пошкодження яєчників у щурів та мишей необоротно зменшує кількість ооцитів та знижує рівень стероїдних гормонів, оскільки циклічну продукцію естрогенів і прогестерону забезпечує нормальний овогенез. У той же час реакція відтворної системи тварини залежить від інтенсивності, рівня та тривалості радіаційної дії. Реакція сім'яників на опромінення дозою з низькою потужністю відрізняється від реакції більшості тканин. Так, постійне опромінення щурів і мишей в дозі 0,02 Гр на добу⁻¹ не змінює репродуктивної здатності на протязі 10 поколінь. Але уже за отримання дози 0,03 Гр виникає зниження запліднюючої здатності сперми [16]. Гостре опромінення обох яєчників у дозі 0,65-1,5 Гр призводить до порушення відтворної функції, тоді як при значному фракціонуванні або пролонгації його з низькою лінійною передачею енергії вони можуть витримати 6-20 Гр [17].

У літературних джерелах недостатньо висвітлено вплив радіонуклідного забруднення території України внаслідок Чорнобильської трагедії на запліднюючу здатність сперми та якість ооцитів тварин. Результат осіменіння корів-донорів, тим часом, може слугувати також швидким і ефективним тестом оцінки запліднюючої здатності сперми та ооцитів тварин, хронічно опромінених як зовні, так і через корми.

Для перевірки такого припущення був проведений дослід, у якому використано сперму двох плідників чорно-рябої породи із Коростенської держплемстанції Житомирської області - Сича 473 (сперма заморожена 25.03.1987 р. у період радіонуклідного забруднення - дослід) та Арика 1432 (сперма отримана 23.12.1985 р. до забруднення - контроль). Корови-донори (n=4) були відібрані в Агростанції "Митниця", Васильківського району, де рівень радіації не перевищив 1 Кюрі на 1 км² і дослідній станції м'ясного скотарства НУБіП України "Ворзель," Києво-Святошинського району Київської області з рівнем радіації вище 5 Кюрі (n=2). Ембріони вимивали на 8-й день статевого циклу, коли вони досягають розвитку різних форм бластоцисти, та визначали за морфологічною оцінкою їх якість.

Високий рівень суперовуляції негативно впливає на запліднюваність яйцеклітин, тому 10 овуляцій на донора вважається оптимальним варіантом [18]. У донорів, яких осіменяли спермою плідника Сича 473, отриманої в період радіаційного забруднення, рівень суперовуляції відповідав оптимальному варіанту, тобто цей фактор не вплинув на запліднюваність яйцеклітин. У групі донорів, закріплених за Сичем 473, вихід придатних ембріонів був меншим на 22,1% порівняно з контрольною групою. Однак цей показник, на нашу думку, не можна розглядати як свідчення негативного впливу радіації на запліднення, бо у контрольних донорів було на 26,2 % більше овуляцій і вимито на 18,2 % більше ембріонів. Якщо ж взяти відносний показник - вихід придатних ембріонів від їх загального числа, - то різниця між групами була незначна (70 % у контролі проти 66,7 % у досліді). Крім того, непридатних ембріонів в обох групах також було отримано майже однакову кількість (табл.6).

На думку дослідників [19], перехід морули в бластоцисту є критичним моментом у житті ембріона і може служити додатковим критерієм оцінки дії радіації на статеві клітини, бо саме вона спричинює нестабільність ДНК [20], що може позначитися на подальшому ембріогенезі. У донорів, які були осіменені спермою плідників Сича 473 та Арика 1432, на 8-й день статевого циклу було відповідно отримано: ранніх бластоцист-0 та 12,1 %; бластоцист - 14,8 та 3,0 %; експандованих бластоцист - 40,7 та 45,4 %; бластоцист, які вилуплюються - 11,1, 12,1 %; задовільних бластоцист - 18,5, 18,2 %; дегенерованих бластоцист - 7,4, 6,2 %; яйцеклітин - 7,4, 3,0 %. Тобто, у обох групах донорів не було вимито жодної морули, а розвиток ембріонів відбувся

6. Рівень супервуляції та вихід придатних ембріонів у корів-донорів, $M \pm m$

Об'єкт дослідження	Плідник	
	Арик 1432 (контроль)	Сич 437
Донори, гол	3	3
Жовті тіла, шт.	15,3 ± 2,3	11,3 ± 1,2
Ембріони, шт:	11,0 ± 3,8	9,0 ± 2,5
придатні	7,7 ± 1,8	6,0 ± 1,2
непридатні + яйцеклітини	3,3 ± 2,0	3,0 ± 1,7

до стадії ранніх бластоцист та бластоцист, які вилуплюються, що свідчить про відсутність негативного впливу даного радіаційного фону на ембріогенез доімплантаційних зародків.

Таким чином, не виявлено впливу впродовж 11 місяців зовнішнього опромінення і інкорпорованих радіонуклідів на запліднюючу здатність сперми плідника Сича 473 та розвиток доімплантаційних ембріонів у донорів, що знаходилися в умовах з низьким рівнем радіаційного фону.

На особливу увагу як речовини, що відіграють багатогранну роль у регуляції метаболізму в організмі жуйних [21], заслуговують природні сорбенти. Це дало підставу сподіватися, що їх згодовування донорам сприятиме збільшенню виходу придатних для пересадження ембріонів одержаних в

процесі індукції поліовуляції, усуваючи недоліки впливу розглянутих вище негативних чинників.

У дослідженнях на телицях [22] було встановлено, що згодовування угорського препарату хумоліт - композиту із глиняного мінералу та гумату (хімічний склад препарату, % : клиноптиоліт - 40, модерніт - 10, вміст води - 7, SiO₂ - 28, Al₂O₃ - 3, CaO₂ - 3, Na₂O - 0,5, K₂O - 2,5) у дозі 0,5 г на 1 кг живої маси впродовж двох місяців не спричинює істотних змін швидкості росту, які можна було б вважати свідченням негативного його впливу на обмінні процеси. На підставі виявлених у тварин у цьому досліді деяких позитивних змін в мінеральному обміні та зниження вмісту нітратів та нітритів було зроблено припущення щодо можливості поліпшення результатів суперовуляції у донорів шляхом включення хумоліту до їх раціонів.

Проведені дослідження показали, що всі дослідні донори після введення ФСГ прореагували суперовуляцією, за винятком донора, якому згодовували хумоліт найдовше (87 днів). У середньому на одного позитивного (з суперовуляцією) донора контрольної групи було отримано овуляцій на 23,4 % більше, ніж у дослідного. Однак у дослідній групі було вимито на 19,3 % більше придатних ембріонів і на 12 % та 89,6 % порівняно з контролем було менше дегенерованих ембріонів та яйцеклітин. Слід підкреслити вдвічі меншу мінливість показників суперовуляції у дослідних тварин, що можна розглядати як свідчення стабільності реакції яєчників на введення ФСГ під час згодовування хумоліту (табл. 7.).

З проведеного дослідю можна з деяким застереженням зробити висновок, що згодовування хумоліту в дозі 0,5 г на 1 кг живої маси тварин, впродовж 6-70 днів не впливає на їх чутливість до екзогенних гонадотронних гормонів, спричинює стабілізацію реакції суперовуляції та дозволяє отримати придатних до пересадження ембріонів на 19,2 % більше. Отже, висловлені сподівання щодо доцільності включення до раціону корів-донорів хумоліту цілком справдились.

Оскільки суперовуляція у тварини пов'язана з напруженням всіх функціо-

7. Результати суперовуляції при згодовуванні донорам хумоліту (на одного позитивного донора), шт.

Об'єкт дослідження	Контроль, n=5		Дослід, n=4	
	M±m	C _v , %	M±m	C _v , %
Жовті тіла	12,8 ± 3,4	59,3	9,8 ± 1,2	25,6
Ембріони:	8,0 ± 3,0	84,3	8,5 ± 1,5	36,6
в т.ч. придатні	3,8 ± 1,2	73,0	4,7 ± 1,8	79,4
непридатні	4,2 ± 1,8	95,8	3,7 ± 1,3	70,1
Яйцеклітини	2,4 ± 1,9	178,2	0,25 ± 0,25	200,0

нальних систем організму, закономірно виникає необхідність метаболічного його забезпечення. Поліовуляцію для тварини прирівнюють до стресового синдрому [23], за якого виявляються характерні зміни в енергетичному забезпеченні успішного функціонування органів та систем.

Отже цілком ймовірно, що збільшення в крові, в першу чергу, енергетичних та пластичних субстратів, в тому числі за рахунок такого нейротропно-метаболічного препарату як "Глютам", під час поліовуляції позитивно впливатиме на вихід придатних зародків. Для перевірки цієї гіпотези та відпрацювання оптимальної схеми використання препарату у ВАТ "Племзавод Бортничі" були проведені три досліді [24].

У першому було сформовано контрольну (n=11) та дослідну (n=14) групи. Дослідним донорам впродовж чотирьох днів вранці, одночасно з ін'єкцією ФСГ внутрішньовенно вводили препарат "Глютам" у об'ємі 125 мл. Утримання та годівля тварин були однаковими.

Як видно з таблиці 8, суперовуляція спостерігалась у 85,7 % дослідних донорів (II група) проти 72,7 % у тварин контрольної (I) групи. Рівень поліовуляції в обох групах був майже однаковим, але у дослідній групі вимили всього ембріонів та з них придатних більше відповідно на 10,7 % та 28,7 %, ніж у контрольній. Задовільних та непридатних ембріонів у обох групах було майже однаково. У другій групі яйцеклітини були отримані від чотирьох

донорів, у першій - лише у одного. Таким чином, на одного позитивного донора у дослідній групі було вимито яйцеклітин в 10 разів більше ніж у контролі.

8. Ефективність суперовуляції на одного позитивного донора

Об'єкт дослідження	Контроль (I група)		Дослід (II група)	
	M±m	C _v , %	M±m	C _v , %
Оброблені донори, гол	11	-	14	-
Позитивні донори, гол.	8	-	12	-
Жовті тіла, шт.	16,00 ± 2,07	36,6	16,75 ± 2,59	53,2
Ембріони всього, шт.	8,88 ± 1,78	56,6	9,83 ± 1,64	78,3
з них придатні:	5,63 ± 1,40	70,4	7,25 ± 1,80	85,9
в т.ч. відмінних	1,25 ± 0,86	194,8	1,83 ± 1,04	197,1
добрих	4,38 ± 1,31	84,6	5,42 ± 1,40	89,2
Задовільні	1,50 ± 0,50	94,3	1,25 ± 0,48	136,9
Дегенеровані	1,75 ± 1,33	215,4	1,33 ± 0,63	164,1
Яйцеклітини	0,13 ± 0,13	282,8	0,33 ± 0,67	200,0

Значний інтерес викликають зміни імунобіохімічних показників крові при введенні препарату, як засіб виявлення біологічної дії в організмі тварин та для розробки схем його використання.

У дослідних донорів у крові, взятій до введення препаратів, була більша концентрація загальних ліпідів на 11,9 % і вищий рівень бактерицидної активності крові (БАК) на 8,7 %. Через 24 години після ін'єкції "Глютаму" та через 12 годин після введення ФСГ виявлена тенденція залишилась без змін, тільки зросла різниця відповідно до 14,3 та 10,5 %. Слід відмітити, що у контрольних тварин після введення ФСГ рівень напруженості бактерицидної активності крові (НБАК) зменшився на 12,1%, а у дослідній групі він змінився в межах помилки і в кінці обробки був більшим на 17,0%. У тварин обох груп порівняно з початковим рівнем вміст сечовини в кінці гормональної обробки зменшився, при чому у дослідних донорів це відбулося більш інтенсивно. Так, у контроль-

них тварин рівень сечовини в крові був меншим після обробки на 10,6%, а у дослідних - на 27,3%. За іншими імунобіохімічними показниками, як між групами, так і між показниками тварин, у групах різниця в межах помилки.

Отже, чотирикратне введення внутрішньовенно донорам препарату "Глютам" у дозі 125 мл під час стимуляції суперовуляції поряд із застосуванням ФСГ зумовлює збільшення виходу придатних до пересадження ембріонів на 28,7%. При чому, досліджувана доза "Глютаму" не спричинює значних змін у обмінних процесах, за винятком тенденції інтенсивнішого зменшення концентрації сечовини та стабілізації БАК і НБАК .

Другий дослід проводився з метою зниження у донорів виходу яйцеклітин під час стимуляції суперовуляції ФСГ у комплексі з використанням препарату "Глютам". Для цього кількість ін'єкцій препарату в I дослідній групі була вдвічі зменшена порівняно з першим дослідом та збільшений до 140 мл об'єм. Щоб досягти підвищення виходу ембріонів при одночасному зменшенні кількості яйцеклітин, була сформована II дослідна група донорів, яким "Глютам" у об'ємі 140 мл вводився чотирикратно - перший та другий раз під час стимуляції статевої охоти одночасно з ін'єкцією аналогів простагландину $F_{2\alpha}$ (ПГ) та наступного дня, а третій і четвертий - у перші два дні обробки їх ФСГ. Для кожної дослідної групи була сформована контрольна. Донорам піддослідних груп вводили внутрішньом'язово "Тетравіт" перший раз під час стимуляції статевої охоти в дозі 10 мл та другий раз на початку введення ФСГ у дозі 5 мл.

Аналіз одержаних даних показав, що в II контрольній групі було на 28,6% менше позитивних донорів, а рівень поліовуляції у дослідних донорів першої та другої груп був меншим відповідно на 27,6 % та 18,7 %, ніж у контрольних.

Однак ефективність вимивання ембріонів та яйцеклітин у тварин дослідних груп була значно вищою в порівнянні з контролем. Так, у I дослідній групі вона була майже вдвічі, а в II - на 20,3 % більшою, ніж у контрольній, що сприяло виходу ембріонів. Від дослідних донорів з I та II груп було одержано більше на 32,7 % та 18,9 % придатних ембріонів, ніж від контрольних. У I

дослідній групі було вимито також у 2-2,5 рази менше непридатних ембріонів у порівнянні з іншими групами. Крім того, на відміну від контрольної та II дослідної груп, у жодного донора не було вимито яйцеклітин.

Тобто, використання "Глютаму" під час синхронізації статевої охоти та в період індукції поліовуляції не спричинює зменшення виходу яйцеклітин, але менш ефективно в плані збільшення виходу придатних ембріонів порівняно з іншими схемами (табл. 9).

Забігаючи наперед, слід зазначити, що у телиць-реципієнтів, відібраних за спонтанною охотою, приживлюваність придатних ембріонів, отриманих від донорів, у схему гормональної обробки яких включили біологічно активний препарат "Глютам," була на рівні 47,6%, що на 11,3% більше ніж у контрольних тварин. Отже, використання під час стимуляції суперовуляції "Глютаму" збільшує вихід придатних до пересадження ембріонів на 18,9-32,7%, а їх приживлюваність на 11,3%. Найбільш ефективною є схема двократного внутрішньовенного його введення донорам у дозі 140 мл на початку стимуляції поліовуляції разом з двократною ін'єкцією "Тетравіту" - перший раз у дозі 10 мл при синхронізації статевої охоти, другий - в дозі 5 мл на початку обробки ФСГ.

За даними експерименту, глютамінова кислота, яка є одним із інгредієнтів "Глютаму," через годину після підшкірного введення, цілком включається в обмінні процеси тваринного організму [25].

Для зменшення затрат праці при використанні в схемах індукції поліовуляції "Глютаму" було вирішено продовжити дослідження впливу препарату на вихід придатних ембріонів при підшкірному його введенні. З цією метою в третьому досліді сформували дві дослідні групи та одну контрольну. Враховуючи результати попереднього досліду, донорам вводили "Глютам" двічі на початку обробки ФСГ та у перший день - 5 мл "Тетравіту" внутрішньом'язово. У I дослідній групі "Глютам" ін'єктували внутрішньовенно в об'ємі 140 мл, а у II - підшкірно 60 мл з однаковою кількістю діючої речовини. Контрольним тваринам двічі підшкірно вводили фізіологічний розчин у дозі 60 мл і один раз внутрішньом'язово 5 мл "Тетравіту" за схемою дослідних груп.

9. Результати стимуляції суперовуляції у донорів з використанням препарату "Глютам"

Об'єкт дослідження	Група							
	Контрольна - I		Дослідна - I		Контрольна - II		Дослідна - II	
	M±m	C _v , %	M±m	C _v , %	M±m	C _v , %	M±m	C _v , %
Донори, гол.	7	-	7	-	7	-	7	-
Позитивні донори, гол.	6	-	6	-	5	-	6	-
Жовті тіла, шт.	15,0 ± 3,22	52,7	10,86 ± 1,39	33,8	15,33 ± 2,97	47,5	12,62 ± 2,2	50,3
Ембріони всього, шт.	6,33 ± 1,58	61,3	8,83 ± 1,56	43,2	5,80 ± 2,03	78,4	7,33 ± 1,11	37,3
в т.ч. придатні	5,83 ± 1,74	73,1	8,66 ± 1,54	43,6	5,40 ± 1,94	80,3	6,66 ± 0,95	35,1
непридатні	0,50 ± 0,34	167,0	0,17 ± 0,16	244,0	0,40 ± 0,24	137,0	0,67 ± 0,33	122,5
Яйцеклітини, шт.	0,50 ± 0,49	244,1	0,00	-	0,00	-	1,17 ± 0,98	205,8
Морули, шт.	0,83 ± 0,30	90,3	3,16 ± 1,16	149,0	0,60 ± 0,40	149,0	4,16 ± 1,48	90,8
Бластоцисти, шт.	5,55 ± 1,76	78,6	5,67 ± 2,29	92,7	5,20 ± 2,07	92,7	3,17 ± 1,01	67,4
Ефективність вимивання,%	44,7	-	81,3	-	37,8	-	58,1	-

Аналіз отриманих результатів показав, що при двократному введенні внутрішньовенно "Глютаму" донорам разом з вітамінами та ФСГ реакція суперовуляції була стимульована у 83,3% тварин проти 100% у контролі та при підшкірній ін'єкції. Позитивних донорів у обох дослідних групах було 100% та 87,5% проти 85,7% у контролі. Ефективність вимивання ембріонів у донорів I групи була на 14,6% більшою, ніж у контролі, у II дослідній вона була майже однаковою з контролем.

Звертає на себе увагу те, що у всіх трьох дослідах внутрішньовенне введення "Глютаму" сприяло ефективності вимивання ембріонів, що очевидно, пов'язане з позитивними морфологічними змінами у матці (табл.10).

У донорів, яким вводили "Глютам" внутрішньовенно, був найвищий рівень суперовуляції, а також одержано придатних ембріонів на 83,1% ($P < 0,001$) більше ніж у контрольній групі. У II дослідній групі було отримано на 37,2% та на 60,7% менше непридатних ембріонів, ніж у контролі та I групі відповідно і було вимито найменше яйцеклітин. Так, із 7 донорів тільки від одного одержали 3 яйцеклітини, тоді як у трьох контрольних та двох дослідних донорів з I групи - по 16 шт. у кожного. За виходом придатних ембріонів II група займає проміжне положення. У тварин цієї групи було вимито придатних ембріонів на 78,8% більше порівняно з контролем та менше на 21,5%, ніж у I дослідній.

У контрольних донорів низький вихід придатних ембріонів спричинений скоріше всього неякісністю серії ФСГ, про що свідчить низький рівень суперовуляції та значна кількість яйцеклітин. Побічно це підтверджує також вищий рівень поліовуляції у донорів, яким препарат вводили внутрішньовенно, на відміну від попередніх дослідів. Можливо, підшкірне введення контрольним донорам фізіологічного розчину сприяло розвитку стресового синдрому, що негативно вплинуло на індукцію суперовуляції та розвиток ембріонів.

Таким чином, введення в організм донорів біологічно активного препарату "Глютам" сприяє збільшенню виходу придатних ембріонів на 83,1 та 78,8%. Підшкірне введення цього препарату донорам скорочує затрати праці, але на 21,5% менш ефективно, ніж внутрішньовенне.

10. Результати стимуляції суперовуляції у донорів із використанням препарату "Глютам".

Об'єкт дослідження	Контроль		Дослідна - I		Дослідна - II	
	M±m	C _v , %	M±m	C _v , %	M±m	C _v , %
Донори, гол	7	-	6	-	8	-
Донори із суперовуляцією, гол.	7	-	5	-	8	-
Позитивні донори, гол.	6	-	5	-	7	-
Жовті тіла, шт.	9,50 ± 2,51	64,8	16,40 ± 5,06	70,7	9,87 ± 1,58	45,4
Ембріони і яйцеклітини всього, шт.	6,17 ± 2,18	86,7	13,20 ± 5,64	95,6	6,71 ± 1,53	60,6
в т.ч. придатні ембріони	1,00 ± 0,26	63,2	6,00 ± 1,00*	37,5	4,71 ± 1,52	85,5
непридатні ембріони	2,50 ± 0,92	99,3	4,00 ± 2,60	145,0	1,57 ± 0,36	62,5
яйцеклітини	2,67 ± 1,49	137,6	3,20 ± 2,96	206,6	0,43 ± 0,43	264,5
Ефективність вимивання, %	64,9	-	79,5	-	67,9	-

Примітка. *P<0,05.

2 ПРИЖИВЛЮВАНІСТЬ ЕМБРІОНІВ У ТЕЛИЦЬ-РЕЦИПІЄНТІВ ЗАЛЕЖНО ВІД ЕНДОГЕННИХ ФАКТОРІВ

Періодичність статевих циклів у самиць великої рогатої худоби спричинює циклічність процесів обміну в їх організмі. У нормі нейроендокринна регуляція забезпечує приживлення ембріонів у органах самки і таким чином сприяє збереженню виду. Але ендогенні фактори як і екзогенні, впливаючи на цю, тонко збалансовану систему, призводять до різного ступеня порушень як у регулюючій системі, так і в обміні речовин, що позначається на рівні приживлюваності у реципієнтів ембріонів.

2.1 Значення функцій жовтого тіла яєчників реципієнтів для результативності трансплантації ембріонів

Серед ендогенних факторів особливо великого значення набуває нейроендокринна регуляція статевого циклу, в якій одну із ключових ролей виконує тимчасова ендокринна залоза - жовте тіло яєчника - продуцент прогестерону. Як відомо, жовте тіло формується впродовж 3-5 днів на місці овульованого фолікула. Доцільно розглянути процес формування та функціонування жовтого тіла, оскільки це може бути теоретичним підґрунтям для розробки практичних способів підвищення ефективності трансплантації ембріонів.

Передовуляторні фолікули мають два капілярних шари. Внутрішній, сформований із товстої щільної капілярної сітки, і зовнішній - із капілярного сплетення [26]. Після овуляції стінка фолікула характерно спадає. Із її складок капіляри проростають у гранульозну тканину часточкових структур жовтого тіла. Від краю розриву фолікула капіляри ростуть центрипетально і разом з лютеїновими клітинами утворюють верхівку жовтого тіла, яка на часточки не розділяється [27]. Ріст капілярів, мабуть, стимулюється ангіогенною активністю самого жовтого тіла, яка зростає з його дозріванням і регулюється ЛГ [28]. Отже, після овуляції устанавлюються дві мікроциркуляції: внутрішня

сінусоїдальна капілярна сітка на дні фолікула та розташована зверху неї заново утворена капілярна сітка жовтого тіла.

Жовте тіло утворюється під впливом ЛГ за рахунок лютеїнізації клітин теки і гранульози [29], що підтверджує наявність у яєчнику кібернінів: інгібітора лютеїнізації, який перешкоджає перетворенню клітин гранульози незрілих фолікулів у лютеальні клітини і синтезу ними прогестерону та інгібітора фіксації ЛГ рецепторами, який виробляють лютеальні клітини з подавленою функцією чутливості рецепторів до ЛГ [30]. З клітин гранульози утворюються великі клітини раннього циклюючого жовтого тіла, а більшість малих - з клітин теки інтерна [31]. Великі лютеальні клітини містять розвинутий гладенький ендоплазматичний ретикулум, мітохондрії з трубчастими кристами, краплі ліпиду і електроннощільні гранули, очевидно, з прогестероном [32]. Малі і ростучі лютеальні клітини мають високу активність лужної фосфатази, тоді як великі - низьку [33]. Співвідношення типів клітин у жовтому тілі змінюється впродовж статевого циклу і вагітності. Малі клітини перетворюються в великі у міру дозрівання жовтого тіла. Вважають, що співвідношення малих і великих клітин регулюється секрецією ЛГ [34]. Кількість малих (< 18 мм) і великих (>18 мм) клітин збільшується до 8-го дня статевого циклу і залишається на високому рівні до 12-го дня, а на 16-й день кількість малих клітин скорочується на 60% і спостерігається тенденція зменшення великих клітин. У нерегресованому жовтому тілі на 16-й день статевого циклу кількість малих та великих лютеальних клітин становить $7,6 \pm 2,4 \times 10^6$ і $4,6 \pm 1,1 \times 10^6$ проти $2,3 \pm 0,4 \times 10^6$ та $1,5 \pm 0,3 \times 10^6$ у регресованих [35]. Великі та малі лютеїнові клітини різняться між собою також за ферментною активністю. Активність 3β -гідроксистероїддегідрогенази і сукцинатдегідрогенази була вищою у великих клітинах, а також у зрілій лютеальній тканині порівняно з тією, що розвивається та починає регресувати. Глюкозо-6-фосфатдегідрогенази було суттєво більше в малих ростучих клітинах та в функціонуючих, ніж у тих, що регресують [36].

Викид у кров прогестерону має свої особливості, які слід враховувати при удосконаленні методу трансплантації, оскільки прогестерон виконує

багатогранну роль у нейрогуморальній регуляції відтворювальної функції, спрямованої на отримання нащадків [37-44].

Рівень прогестерону у корів у період охоти і в перші дні після овуляції низький, з 5-6-го дня концентрація гормону збільшується, що пов'язане з початком функціонування жовтого тіла. Найбільшого рівня концентрація прогестерону в крові досягає на 15-16-й день циклу. З 17-18-го дня вміст прогестерону поступово знижується. Слід відмітити, що найбільша інтенсивність викиду прогестерону в кров у телиць спостерігається на 7-8-й і на 15-16-й дні статевого циклу. Так, якщо на 5-6-й день циклу концентрація в крові прогестерону зросла на 58%, то на 7-8-й день у три рази, а на 15-16-й день - на 45% [45-47].

Рівень прогестерону в крові реципієнтів - один із основних ендогенних факторів, які впливають на приживлюваність ембріонів. Встановлено, що оптимальна його концентрація перед пересадженням має бути більшою 2 нг/мл [48]. Однак, слід зазначити, що чітких критеріїв відбору реципієнтів за морфологічними ознаками жовтого тіла ще не запропоновано. На підставі ректальних досліджень яєчників жовті тіла поділяють, згідно з розміром та консистенцією, в основному, на три групи: "відмінні", "добрі" та "задовільні". При цьому у реципієнтів з "відмінними" та "добрими" жовтими тілами приживлюваність ембріонів вища на 15-20%, ніж з "задовільними" [49]. Доцільність розробки чіткіших критеріїв відбору реципієнтів саме за цією ознакою незаперечна.

Нами були проведені науково-виробничі дослідження щодо відбору телиць-реципієнтів за морфологічною оцінкою яєчників, аналогічно застосованій для оцінки донорів. Як основний її критерій визначили вихід верхівки жовтого тіла за межі яєчника на 6-7-й день статевого циклу. Телиць, у яких яєчник був збільшений, але внутрішнє жовте тіло не виступало над його поверхнею, оцінювали як умовно (\pm) придатних для пересадження ембріонів. Реципієнтів, на яєчнику яких жовте тіло виходило за його межі до 0,5 см, відносили до

придатних (+, I група), від 0,5 до 1,0 см - до бажаних (++, II група), понад 1 см - до обов'язкових (+++), III група) для пересадження ембріонів [50].

На сьомий день статевого циклу провели 114 пересадок ембріонів, оцінених за морфологічними ознаками як "відмінні" та "добрі". "Задовільні" ембріони пересаджували разом з "відмінними" або "добрими" в один ріг матки із сторони жовтого тіла. Дослідження показали, що у реципієнтів з верхівкою жовтого тіла понад 0,5 см (II та III групи) приживлюваність ембріонів була на 17-31,7% вищою, ніж у тварин з I групи (табл.11.).

11. Приживлюваність ембріонів у телиць-реципієнтів залежно від морфологічної оцінки у них жовтого тіла яєчників

Об'єкт досліджень	Групи реципієнтів з оцінкою жовтого тіла		
	I (+)	II (++)	III (++++)
Пересаджені ембріони, шт.	21	71	22
Тільні реципієнти, гол.	5	38	9
Приживлюваність, %	23,8	53,5	40,9

Ці результати частково збігаються з даними тих досліджень [51], у яких як критерій морфологічної оцінки брали також розмір жовтого тіла на яєчнику корів після штучного осіменіння, але в інші дні статевого циклу. До "добрих" автори відносили жовті тіла, що мали верхівку понад 0,5 см на 10-12-й день статевого циклу. Серед корів з таким жовтим тілом стали тільними 75% проти 20% у тварин з "задовільними" жовтими тілами.

Як свідчать дані таблиці 12, бластоцисти частіше приживлювалися, ніж морули, особливо пересаджені реципієнтам II групи, тобто для них оптимальнішим є функціонування жовтих тіл з верхівкою до 1 см.

На приживлюваність ембріонів різних стадій розвитку, можливо, певною мірою вплинуло місце в рогові матки, на яке був пересаджений зародок. Але півтора - двократна різниця між приживлюваністю морул і бластоцист у тварин

різних груп, безумовно, залежить від розміру жовтого тіла. Пересадження двох морул, одна з яких задовільна, підвищує ймовірність їх імплантації в матці телиці-реципієнта завдяки вищому рівню трофобластину, який стимулює функціональну активність жовтого тіла.

12. Приживлюваність ембріонів різних стадій розвитку залежно від морфологічної оцінки жовтого тіла яєчників телиць-реципієнтів.

Об'єкт досліджень	Стадія та групи реципієнтів								
	морула			бластоциста			2 морули		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
Пересаджені ембріони, шт.	11	25	11	9	32	9	1	14	2
Тільні реципієнти, гол.	1	9	4	3	22	4	1	7	1
Приживлюваність, %	9	36	36,3	30	68,8	44,4	100	50	50

Зіставлення концентрації прогестерону в крові реципієнтів з результатами морфологічної оцінки жовтих тіл свідчить про зв'язок цих показників і створює можливість відбору серед них біля 80% самиць з більш сприятливою морфофункціональною ситуацією для пересадження ембріонів. Так, у телиць-реципієнтів, у яких верхівка жовтого тіла виходить над поверхнею яєчника, середній вміст гормону дорівнює або перевищує 2 нг/мл. Індивідуальний аналіз показав, що найбільш придатними для пересадження ембріонів є реципієнти, у яких жовте тіло виходить над поверхнею яєчника на 0,5 - 1 см (табл. 13).

Отже, при ректальному дослідженні яєчників у реципієнтів бажано робити морфологічну оцінку жовтого тіла за цією ознакою. Трансплантувати ембріони слід у першу чергу реципієнтам, у яких його верхівка переважає 0,5 см. При виявленні у реципієнта жовтого тіла з верхівкою меншою 0,5 см та за умови достатньої кількості ембріонів здійснювати пересаджування йому у другу чергу, а з внутрішнім жовтим тілом - в останню. Такий підхід у півтора - два рази підвищує ефективність методу.

Приживлення ембріонів - складний морфофункціональний процес, якому передують ріст і розвиток доімплантаційних зародків, підготовка як статевого

апарату самиці, так і її організму в цілому. На всіх етапах підготовки до вагітності одну із основних ролей відіграє гормон жовтого тіла - прогестерон, в біосинтезі якого бере участь холестерин.

13. Концентрація прогестерону в крові реципієнтів з різною морфологічною оцінкою жовтих тіл на 6-7-й день статевого циклу,

Об'єкт досліджень	Морфологічна оцінка жовтих тіл			
	±	+	++	+++
Кількість тварин, гол	2	3	3	4
Прогестерон, нг/мл				
M±m	0,42	2,87±1,41	2,0±0,49	2,19±1,23
Lim = X _{min} - X _{max}	0,1-0,75	0,1 - 4,8	1,2* - 2,9	0,2 - 5,8

Примітка: * 6 день;

У загальній кількості ліпідів плазми крові великої рогатої худоби 54% припадає на ефірозв'язаний холестерин [52], участь якого в обмінних процесах залежить від вмісту ліпоротеїнів особливо низької (ЛПОНЩ), низької (ЛПНЩ) та високої щільності (ЛПВЩ). Останні завдяки своїй будові та функції виконують особливу роль у регуляції обміну ліпідів. Вони складаються з 50% білку, 25% фосфоліпідів та 20% холестерину [53]. Основним місцем синтезу ЛПВЩ є печінка та кишківник [54].

До основних функцій названих ліпопротеїнів належить транспортування ефірів холестерину, фіксація надлишкового холестерину з поверхні периферичних клітин, каталізація його до ефірів та передача іншим ліпопротеїнам або транспортування у печінку. Крім того, вони беруть участь в обміні апопротеїнів різного класу, віддаючи апопротеїн С новоствореним хиломікронам, [55, 56].

Дослідженнями було встановлено, що рівень ЛПВЩ у плазмі крові залежить від фізіологічного стану тварини. Так, у період максимального роздоювання корів концентрація їх збільшується вдвічі порівняно з цим показником у сухостійних і у півтора рази - у хворих на кетоз [57, 58]. У іншій праці [59] при патології

обміну речовин у корів спостерігали зменшення рівня ЛПВЩ. У людей зниження рівня ЛПВЩ розглядається як одна з ознак атеросклерозу [60]. Фізичне навантаження у коней також викликає зниження вмісту в крові цих ліпопротеїнів [61]. Було встановлено (на щурах), що в сироватці крові спостерігається зростання фракції ЛПНЩ та зниження фракції ЛПВЩ з віком [62]. На рівень концентрації названих ліпопротеїнів впливає також тип годівлі тварин [63].

Про зв'язок обмінних процесів холестерину з відтворювальною функцією самиці свідчить той факт, що природна мутація гена-рецептора ЛПНЩ та ЛПОНЩ викликає неплідність, обмежену здатність до овуляції, призводить до гіперліпонемії та сприяє ранньому атеросклерозу [64]. За деякими даними [65], найвища його концентрація спостерігалась під час першого осіменіння після отелення ($P < 0,05$). У тільних корів виявлена тенденція більшої його концентрації в дні отелення, першого еструсу, першого штучного осіменіння та на 21-й день після нього. Аліментарна неплідність, пов'язана з ожирінням корів, супроводжується накопиченням у крові ЛПОНЩ та ЛПВЩ [66]. Важливість вмісту ЛПВЩ для відтворної функції побічно засвідчують повідомлення про більший їх вміст у крові жінок, ніж чоловіків та те, що при гіперліпопротеїнемії зниження вмісту цих фракцій вірогідно частіше спостерігається у чоловіків [60]. Повідомляють [67], що ЛПВЩ є основними постачальниками етерифікованого холестерину для стероїдогенезу в яєчниках. *In vitro* було встановлено, що клітини жовтого тіла збільшують продукцію прогестерону одночасно зі зростанням концентрації ЛПВЩ [68]. Важливо також підкреслити, що рівень концентрації ЛПВЩ стимулюється саме естрогенами [69].

Цілком очевидно, що зміни рівня концентрації вмісту ЛПВЩ носять функціональний характер, детерміновані за статтю і відображають стан обміну ліпідів, а також можуть слугувати ознакою інтенсивності біосинтезу прогестерону та є підставою для використання цієї ознаки як тесту уточнення, відбору реципієнтів для трансплантації ембріонів.

Для перевірки цього постулату нами був проведений дослід, в якому у реципієнтів чорно-рябої породи, яким пересаджували ембріони від донорів тієї

ж породи, кров відбирали двічі: вперше - у невизначений день статевого циклу (розвиток та функціональна активність жовтого тіла у реципієнтів були на різному рівні) та вдруге - після стимуляції естрофаном статевої охоти лише у тварин з морфологічно добре розвинутим жовтим тілом (n=22) .

У іншому досліді реципієнтам чорно-рябої породи пересаджували заморожено-відтаяні ембріони абердин-ангуської. Із 46 телиць після спонтанної охоти на 6-й день статевого циклу за морфологічною оцінкою жовтих тіл для пересадження ембріонів відібрали лише 23 гол.. У клінічно здорових реципієнтів кров брали на 7-й день статевого циклу з огляду на те, що саме в цей день розпочинається активне функціонування жовтого тіла і в крові в три рази зростає рівень прогестерону [70], що вимагає відповідного метаболічного забезпечення, а значить і інтенсифікації транспортування холестерину.

Рівень ЛПВЩ у крові реципієнтів досліджували кристало-оптичним методом [71]. Функціональну активність жовтого тіла яєчників клінічно здорових телиць-реципієнтів оцінювали за кількістю та розміром хрестоподібних анізотропних включень типу «мальтійський хрест» умовно, в балах від 0 до 4 за трьома рівнями: низький (0-2 бали); середній (3 бали); високий (4 бали).

Низька функціональна активність жовтого тіла: нуль балів - у краплині, що висохла, ЛПВЩ утворюють прозорий візерунок, який нагадує листя папороті без хрестоподібних включень; 1 бал - анізотропні включення типу «мальтійський хрест» дрібні (2,5-5 мкм) і їх у полі зору не більше 10; 2 бали - анізотропні включення дрібні та середні (7,5-10 мкм), в полі зору їх 15 і більше; 3 бали - 15 і більше дрібних та середніх анізотропних включень, які аглютинують (середня функціональна активність жовтого тіла); 4 бали - з'являються великі (12,5 - 20 мкм) включення типу «мальтійський хрест», поряд з якими можуть бути більш дрібні - 5 -10 мкм (висока функціональна активність жовтого тіла).

Дослідження показали, що на 7-й день статевого циклу бал вмісту анізотропних включень у тільних та нетільних реципієнтів був вірогідно більшим на 71% (P<0,05) та 48,9%, порівняно з цим показником у невизначений день циклу (табл.14).

14. Зміна функціональної активності жовтого тіла в різні дні у реципієнтів після пересадження ембріонів, бал

Пересаджені ембріони	Тільні			Нетільні		
	День статевого циклу					
	n	невизначений	7-й	n	невизначений	7-й
Нативні	10	0,9+0,23*	3,1+0,31**	12	1,33+0,3	2,25+0,35
Відтаяні	13	-	2,9+0,22*	10	-	1,70+0,42*

Примітка: *P<0,05; **P<0,01

Тобто, зростання в крові концентрації прогестерону спричинює зміну кількісної характеристики анізотропних включень. Середній бал кількісної характеристики включень у тільних реципієнтів на 7-й день статевого циклу був більшим на 41,8% (P<0,05) та на 27,5%, ніж у нетільних, що побічно сигналізує про підвищений рівень прогестерону в їх крові.

Отже, наведені дані свідчать, що збільшення бала кількісної характеристики анізотропних включень пов'язане зі зростанням концентрації прогестерону.

Згрупувавши показники тільних та нетільних реципієнтів на підставі до кількісної характеристики у них анізотропних включень як показника функціональної активності жовтого тіла, встановили, що загальна приживлюваність ембріонів відповідно становила 45,5 та 56,5%. Серед тільних було 60-69% реципієнтів, що мали середню та високу (3-4 бали) функціональну активність жовтого тіла, а серед нетільних таких виявлено лише 25-30%. Серед тільних реципієнтів низьку функціональну активність у 1 - 2 бали мали 30-40%, проти 50-75% серед нетільних тварин. Низька функціональна активність жовтого тіла нуль балів - спостерігалась лише у двох нетільних реципієнтів (табл.15).

Проведений аналіз свідчить, що серед клінічно здорових реципієнтів для пересадження ембріонів на 6-8-й день статевого циклу слід відбирати в першу чергу тих, які мають жовте тіло з високою та середньою функціональною активністю, а потім з низькою в (1-2 бали). Реципієнтам, у яких жовте тіло з функціональною активністю нуль балів, пересаджувати ембріони не доцільно.

Використання запропонованого способу відбору реципієнтів дозволить отримати приживлюваність на рівні 60-70%, що робить метод трансплантації

15. Функціональна активність жовтого тіла на 7-й день статевого циклу в реципієнтів після пересадження ембріонів, гол./%

Пересаджені ембріони	Тільні, бал			Нетільні, бал		
	0	1-2	3-4	0	1-2	3-4
Нативні	-	4/40	6/60	-	9/75	3/25
Відтаяні	-	4/30,8	9/69,2	2/20	5/50	3/30

економічно високоефективним. Спосіб простий у виконанні і дозволяє визначити функціональну активність жовтого тіла яєчників у 15-30 телиць-реципієнтів впродовж 2-3 годин.

Отже, у клінічно здорових телиць-реципієнтів на 7-й день статевого циклу на підставі кількісної характеристики анізотропних включень ЛПВЩ, визначеної за допомогою кристало-оптичного методу, можна оцінити функціональну активність жовтого тіла яєчників.

2.2 Приживлюваність ембріонів залежно від метаболічного стану реципієнтів

Майже всі системи організму пов'язані в більшому або меншому ступені з відтворною функцією. Відомо, що у маточного поголів'я великої рогатої худоби запліднюється майже 100% овулюючих яйцеклітин [72], але народжуваність набагато нижча через загибель зародків у різні критичні періоди ембріо- і фетогенезу. Таку летальність спричинюють як екзогенні, так і ендогенні фактори. Мінливість імунобіохімічних показників, навіть у межах фізіологічної норми, може спричинити в критичні періоди загибель зародків або негативно вплинути на імплантацію та ембріо-і фетогенез. Визначення оптимального метаболічного профілю крові тварин у зв'язку з відтворною функцією може стати підґрунтям корекції в їх організмі обмінних та

енергетичних процесів з метою підвищення ефективності біотехнологічних методів відтворення.

Аналіз біохімічних показників крові, взятої на 7-й день статевого циклу, проводили у тільних та нетільних реципієнтів, згрупованих на підставі визначення вагітності шляхом ректального дослідження через три місяці після пересадження їм ембріонів. Загальна приживлюваність ембріонів у піддослідних телиць-реципієнтів виявилась на рівні 54,3%. У реципієнтів, що стали тільними, рівень глюкози та сечовини був в день трансплантації ембріонів вірогідно меншим відповідно на 22,1% та 7,2%, а каротину більшим на 14,8% (табл. 16).

16. Біохімічні показники крові на 7-й день статевого циклу у реципієнтів з різним ефектом трансплантації ембріонів

Інгредієнт	Тільні (n=19)		Нетільні (n=16)	
	M±m	C _v , %	M±m	C _v , %
Загальний білок, г/л	75,64±0,70	4,1	75,05±1,40	7,9
Альбуміни, %	49,35±1,60	15,5	45,75±1,50	11,7
Глобуліни, %	50,65±1,60	14,1	50,25±1,50	11,9
α-глобулін, %	10,70±1,10	49,8	10,75±1,00	37,3
β-глобулін, %	28,75±1,30	20,8	28,50±0,90	13,0
γ-глобулін, %	11,20±0,79	31,9	11,00±0,50	18,4
Ліпіди, ммоль/л	3,26±0,10	19,7	3,24±0,10	12,9
Сечовина, ммоль/л	3,91±0,10	19,0	4,21±0,10*	10,1
Глюкоза, ммоль/л	2,88±0,19	29,9	3,70±0,34*	38,9
Каротин, мкмоль/л	5,05±0,19	26,6	4,30±0,19**	29,8

Примітка: *P<0.05; **P<0,01

Для визначення оптимального рівня концентрації досліджуваних імунобіохімічних інгредієнтів, який супроводжувала найбільша приживлюваність зародків, весь масив даних був розбитий за кожним показником на класи. У межах кожного класу обчислені середні арифметичні,

коефіцієнти варіабельності та визначена приживлюваність пересаджених ембріонів. Більшість показників були розділені на три класи, крім глюкози (5 класів), бактерицидної активності крові (4 класи) та альбумінів і глобулінів (2 класи). Коефіцієнт варіабельності в кожному класі більшості показників не перевищував 10%, за винятком α -глобулінів, у яких він був в межах 13-29%.

На основі середніх даних були побудовані графіки (рис.1, 2.) які відобразили взаємозв'язок між рівнем приживлюваності та досліджуваними показниками.

Як свідчать графіки, для кожного імунобіохімічного показника характерним є певний максимальний рівень приживлюваності ембріонів. Так, 80-100% приживлюваності ембріонів спостерігається тільки в класах показників глюкози, сечовини загальних ліпідів, γ - глобуліну та БАК; 60-79% - каротину, загального білку, альбуміну, глобулінів, їх співвідношення, α -та β -глобулінів. Слід зазначити також, що ці показники відрізняються за формою кривих розподілу. Крива глюкози має позитивну асиметрію. Форма кривої БАК наближається до нормального розподілу. Для ліпідів, сечовини, γ - та β -глобулінів характерним є U - розподіл, що дозволяє припустити наявність сильного специфічного фактора, діючого на зв'язок цих показників з приживлюваністю ембріонів, яка прямо пропорційно залежить від концентрації каротину в крові телиць-реципієнтів.

Отже, певні імунобіохімічні показники відрізняються ступенем впливу на рівень приживлюваності ембріонів. Для досягнення найвищого її рівня в реципієнтів на 7-й день статевого циклу має бути, в першу чергу, оптимальний рівень концентрації в крові глюкози, каротину, ліпідів, сечовини, γ -глобулінів та БАК.

З метою визначення оптимальної концентрації досліджуваних показників для різних рівнів приживлюваності відповідні дані були рознесені в класи, до яких включили середні значення концентрації кожного показника інгредієнтів крові. У певних класах приживлюваності клас деяких біохімічних показників не був встановлений, тому їх середня арифметична обчислена на підставі

об'єднаної вибірки показників тварин, що входили до відповідних класів, згрупованих за кривою розподілу та величиною впливу на приживлення ембріонів.

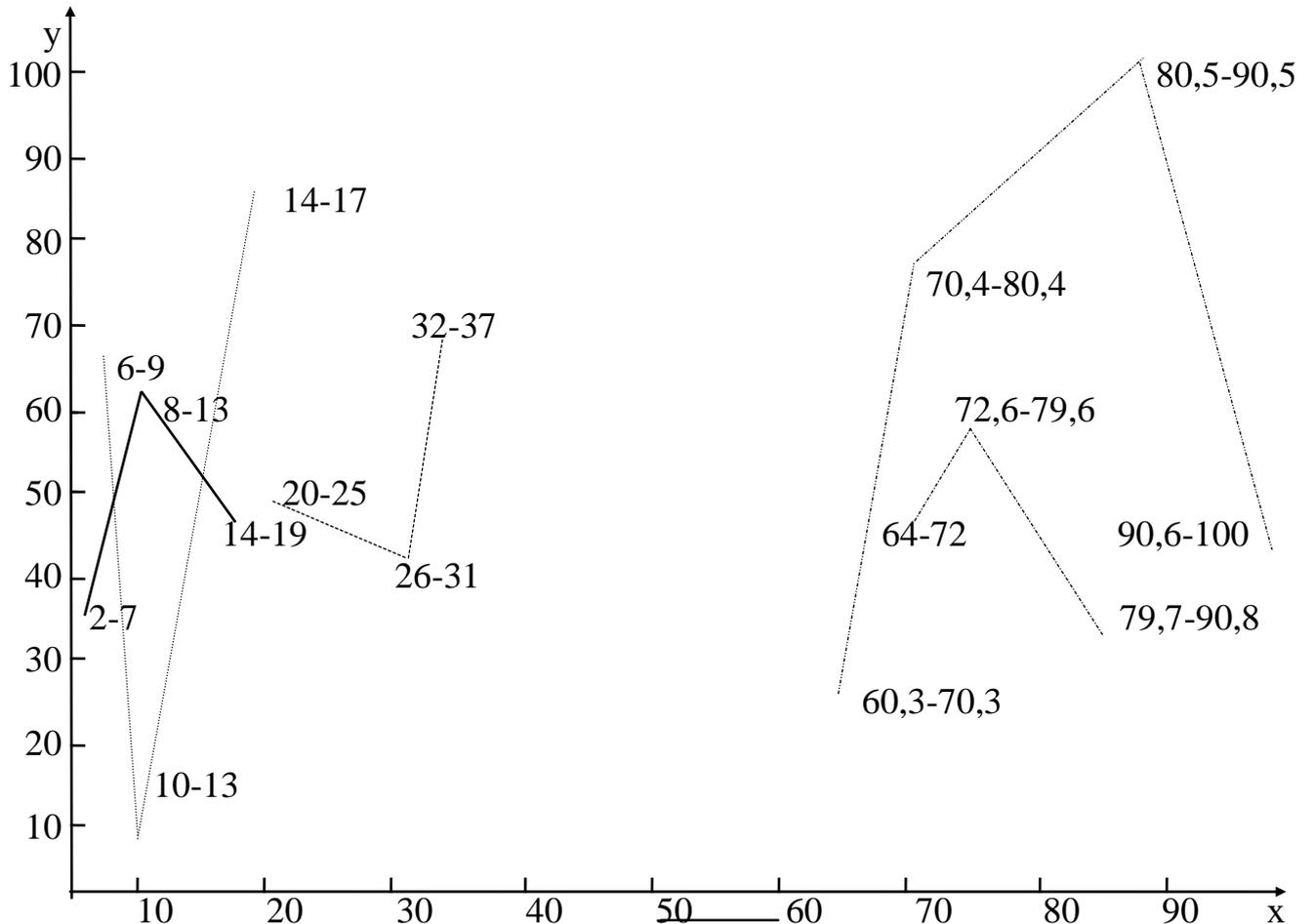


Рис. 1. Рівень приживлюваності ембріонів залежно від динаміки імунобіохімічних показників крові телиць-реципієнтів (x-концентрація, у - приживлюваність, %, 10-13 - клас показника, ———— - α -глобуліни, - - - - - β -глобуліни, - γ -глобуліни, - . - . - . - загальний білок, - - - - - БАК)

Аналіз отриманих даних показав, що приживлюваність ембріонів залежить від зміни концентрації як одного показника, так і їх сукупності. Так, у тварин з приживлюваністю 16-39% вміст білку в крові був на верхній межі фізіологічної норми, а глюкози - перевищував її на 35,8%, каротину та ліпідів був меншим ($P < 0,001$), а сечовини та БАК більшим ($P < 0,001$) порівняно з цими показниками

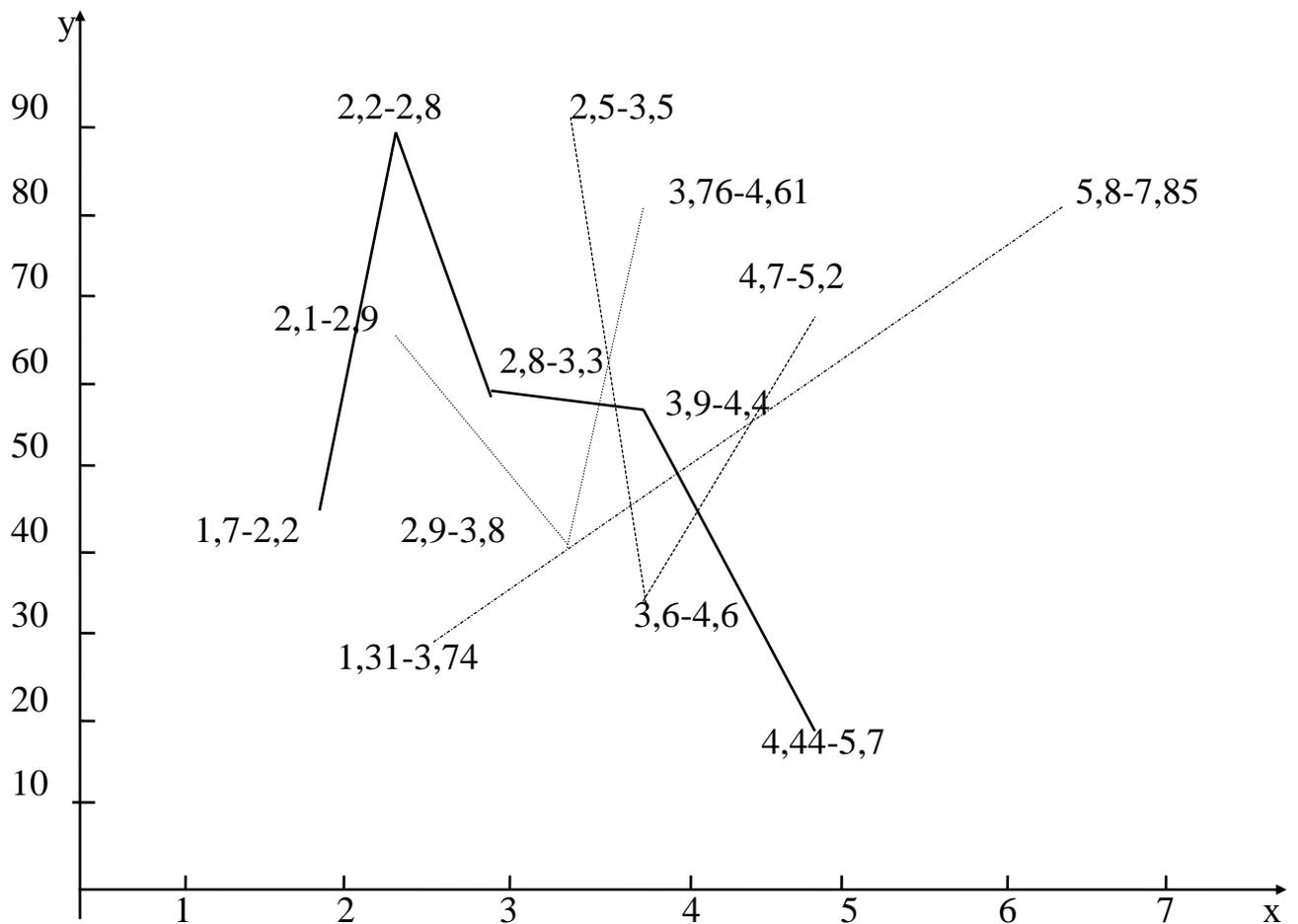


Рис. 2. Рівень приживлюваності ембріонів залежно від динаміки біохімічних показників крові реципієнтів (x концентрація, ммоль/л, у приживлюваність, %, 1,31-3,74 - клас концентрації показника, — глюкоза, загальні ліпіди, - - - - - каротин, мкмоль/л, - - - - - сечовина) - у тварин, які мали найвищу приживлюваність. Відомо [73], що високий рівень білку, сечовини та глюкози в крові характерний для субклінічного кетозу. У тварин же з приживлюваністю ембріонів 40-49% рівень глюкози був нижчим фізіологічної норми, а каротину вірогідно більшим порівняно з попередньою групою (16-39%), що характерне для гепатозу [74] (табл. 17).

Виходячи з наших досліджень, можна стверджувати, що рівень приживлюваності прямо пропорціональний вмісту каротину в крові тварин, і щоб забезпечити 50% приживлення ембріонів, необхідна концентрація його на рівні не менше $0,28 \pm 0,02$ мг%. За оптимального перебігу обмінних та енергетичних процесів в організмі це може сприяти підвищенню відсотка

17. Рівень приживлюваності ембріонів залежно від метаболічного профілю крові реципієнтів

Інгредієнт	Клас приживлюваності, %											
	16-39		40-49		50-59		60-69		70-79		80-100	
	n	M±m	n	M±m	n	M±m	n	M±m	n	M±m	n	M±m
Загальний білок, г/л	3	85,5±2,7**	9	73,5±1,2	8	70,0±1,0	25	75,9±0,3	18	75,4±0,8	13	74,2±0,7**
Альбуміни, %	28	50,3±1,2	9	52,7±1,9	29	51,9±0,8	30	48,0±1,4	7	38,3±0,9***	13	52,8±2,3***
Глобуліни, %	28	48,7±1,2	9	47,3±1,9	29	49,1±0,8	30	52,0±1,4	7	61,7±0,9***	13	47,2±2,3***
α-глобуліни, %	8	6,0±0,6*	9	9,7±0,6	10	16,6±1,1	18	10,2±0,3	18	10,6±0,8	13	12,3±2,7*
β-глобуліни, %	28	29,2±0,7	15	29,0±0,5	10	22,5±1,4	30	29,2±0,9	11	33,7±0,3**	13	24,8±2,9**
γ-глобуліни, %	15	11,5±0,3***	9	9,8±0,7	24	11,9±0,5	30	11,5±0,6***	14	8,2±0,2***	7	15,9±0,6***
A/G	28	1,0±0,04	9	1,0±0,01	11	1,3±0,1	5	0,6±0,03	7	0,8±0,02***	13	1,1±0,1***
Глюкоза, ммоль/л	6	5,18±0,17***	9	2,04±0,05	7	4,09±0,08	5	3,09±0,09	16	2,72±0,23	8	2,4±0,06***
Каротин, мкмоль/л	9	2,99±0,19***	9	5,60±0,37	18	4,86±0,19	30	4,86±0,19***	9	6,5±0,19***	13	5,24±0,37
Сечовина, ммоль/л	21	4,1±0,04***	9	4,0±0,3	23	4,1±0,1	6	5,1±0,1	17	4,0±0,2***	8	3,2±0,1**
Ліпіди, ммоль/л	15	3,3±0,1***	20	3,4±0,1	24	3,3±0,1	11	2,6±0,1	18	3,3±0,1***	5	4,1±0,1 ^x ***
БАК, %	14	65,8±0,7***	9	91,5±4,1	8	99,2±1,7	30	77,6±2,5	9	73,7±0,8***	5	88,1±1,5***

Примітка: * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001

імплантації, нормальному розвитку зародків та побічно підтверджує висновок, що згодовування кормового препарату β -каротину мікробіологічного походження впродовж 30 днів підвищує приживлення ембріонів у корів (на 12%) та скорочує сервіс-період (на 16,9 дня) [75].

У тварин з приживлюваністю ембріонів на рівні 60-69% в крові була найвища ($P < 0,001$) концентрація сечовини. У реципієнтів з класу - 70-79% спостерігалась диспротеїнемія, про що свідчить вірогідно більший рівень β -глобулінів порівняно з класом реципієнтів з найвищою приживлюваністю (80-100%). При чому, майже всі досліджувані показники вірогідно різнилися (за винятком загального білку та α -глобулінів) від аналогічних у тварин з попереднього класу(70-79%). Отже, в організмі телиць класу 80-100% обмінні процеси були найбільш сприятливі для розвитку зародків та їх імплантації. Зазначений рівень концентрації цієї сукупності інгредієнтів крові можна вважати оптимальним метаболічним профілем у практиці методу трансплантації ембріонів.

Збочення в обмінних процесах в організмі тварин, які призводять до зміни вмісту названих показників, спричинює зниження приживлюваності пересаджених ембріонів.

Згідно з нашими даними, забезпечення 80-100% приживлюваності ембріонів при трансплантації зумовлюється певним метаболічним профілем крові реципієнтів а саме на 7-й день статевого циклу: концентрація загального білку та β -глобулінів на рівні - $74,22 \pm 0,75$ та $24,77 \pm 2,94\%$; альбуміно-глобулінове співвідношення - $1,15 \pm 0,1$; каротину не менше $532,6 \pm 37,4$ мкмоль/л; рівень глюкози, сечовини, ліпідів, γ -глобулінів та БАК в межах - 2,225-2,775 ммоль/л, 2,5-3,5 ммоль/л, 3,76-4,61 ммоль/л, 14-17%, 80,5-90,5% відповідно (табл.17).

За даними досліджень [74], на час першого осіменіння після отелення існує вірогідна різниця між вмістом глюкози в крові корів, що стали тільними і тими, що залишились нетільними. Низький рівень концентрації глюкози у нетільних тварин на час першого осіменіння залишався таким же, як у корів через 4-7

тижнів після отелення. У нашому досліді встановлена вірогідна різниця за вмістом в крові концентрації глюкози на 7-й день статевого циклу між реципієнтами, які стали тільними та тими, що залишилися нетільними, і значна варіабельність її вмісту (табл.17). Всі ці дані спонукали до більш детального аналізу приживлюваності ембріонів у реципієнтів залежно від рівня вмісту глюкози в крові. Для цього реципієнтів згрупували в класи, в яких обчислили середній вміст зазначених компонентів сироватки крові.

Отримані результати підтвердили, що рівень приживлюваності трансплантованих ембріонів змінюється залежно від рівня глюкози в крові реципієнтів. Найбільша приживлюваність ембріонів (87,5%) спостерігається в реципієнтів з концентрацією глюкози в межах 2,22-2,78 ммоль/л, найменшою (16,7%) вона була у тварин, що мали в крові її більше 4,44 ммоль/л (табл.18).

Відповідне групування у класи за вмістом глюкози дозволило проаналізувати дані щодо концентрації інших досліджуваних показників крові. Порівняльний аналіз показав, що у реципієнтів II групи з приживлюваністю 87,5% рівень у крові загального білку, його фракцій, загальних ліпідів та сечовини був майже однаковий з тваринами I та V груп, у яких вона склала відповідно - 44% та 16,7%. Між тваринами I та II груп вірогідна різниця тільки

18. Приживлюваність ембріонів у реципієнтів залежно від класу за рівнем концентрації глюкози в крові

Клас за глюкозою, ммоль/л	Група	Всього, гол.	Тільні, гол.	Приживлюваність, %	P
1,67-2,22	I	9	4	4,4	<0,05
2,225-2,775	II	8	7	87,5	<0,001
2,78-3,33	III	5	3	60,0	>0,05
3,89-4,44	IV	7	4	57,1	>0,05
4,445 і більше	V	6	1	16,7	<0,001

за вмістом глюкози. Зменшення її концентрації в крові тварин I групи на 14,5% (P<0,001) спричинило зниження приживлюваності ембріонів на 43,1%. У

тварин V групи в крові був вірогідно більший вміст глюкози та вища бактерицидна активність (відповідно на 54,6% та 24,6%) і менший каротину (на 30,4%), ніж у реципієнтів II групи (табл.19). Оскільки рівень глюкози в крові цих тварин, крім того, на 35,8% перевищує фізіологічну норму [76], це дозволяє припустити наявність у них початкової форми діабетичного синдрому. Такий рівень обмінних процесів спричинив чотирикратне зниження у реципієнтів приживлюваності ембріонів.

Враховуючи вдвічі більшу приживлюваність ембріонів у тварин I групи в порівнянні з V, а також рівень визначених біохімічних показників, можна зробити висновок, що поєднання в крові реципієнта концентрації глюкози, меншої фізіологічної норми, та більшої каротину створює в організмі сприятливіші умови для приживлення ембріонів, ніж за більшої концентрації глюкози у поєднанні з меншим вмістом каротину. Різниця в приживлюваності ембріонів між реципієнтами з I та V груп, очевидно, обумовлена не тільки негативними змінами в обмінних процесах, а також і реакцією на них імунної системи. Так, у реципієнтів з I групи БАК була нижчою на 29,4% ($P < 0,001$) порівняно з тваринами V групі. Порівняно з II у реципієнтів III та IV груп на фоні вірогідно більшої концентрації глюкози спостерігається значне підвищення вмісту в сироватці β -глобулінів на 21,2% ($P < 0,01$) та 17,3% відповідно, а також була вірогідно менша концентрація каротину (на 25% та 14,3%) і більша БАК (на 16,9% та 18,23%). Слід підкреслити одночасне зниження рівня альбумінів.

Відомо, що диспротеїнемія у тварин зустрічається досить часто [77]. Збільшення рівня β -глобулінів у крові найчастіше відбувається при гіперліпопротеїнеміях різного походження [78], а рівня ліпопротеїнів дуже низької щільності спостерігається при діабеті у самиць, що мають в крові високу концентрацію естрогенів [79]. Крім того, підвищення рівня β -глобулінів в крові буває також при гепатиті та нефрозі [80]. Враховуючи досить високу приживлюваність ембріонів у реципієнтів III групи, можна припустити, що зміни в процесах ліпідного обміну носять фізіологічний характер, сутність якого полягає в підвищенні в крові рівня естрогенів, які продукуються фолікулом, що

19. Імунобіохімічні показники крові телиць-реципієнтів залежно від концентрації глюкози, M±m

Інгредієнт	Група (клас, ммоль/л), приживлюваність %				
	I (1,67-2,22),44,4	II (2,225-2,775), 87,5	III (2,78-3,33), 60	IV (3,89-4,44), 57,1	V (4,445 i >) 16,7
Глюкоза, ммоль/л	2,04±0,05 ^{***}	2,36±0,05 ^{***}	3,09±0,09 ^{***}	4,09±0,08 ^{***}	5,18±0,17 ^{***}
Загальний білок,г/л	73,75±1,22	7450±0,88	74,16±2,46	77,07±2,50	76,90±1,06
Альбуміни,%	52,67±1,86 [*]	51,12±2,16 [*]	40,80±2,35 [*]	47,42±2,65	52,00±1,67 [*]
Глобуліни,%	47,33±1,86 [*]	48,88±2,16 [*]	59,20±2,35 [*]	52,57±2,65	48,00±1,67 [*]
α-глобуліни,%	9,67±0,58 [*]	12,00±2,20	13,00±1,26 [*]	9,85±2,09	11,00±1,97
β-глобуліни,%	27,88±1,4 ^{**x}	26,00±2,66 ^{**}	33,00±0,71 ^{**}	31,43±0,97	27,00±1,26 ^{**}
γ-глобуліни,%	9,78±0,76	10,88±1,09	13,20±1,77	11,28±0,81	10,00±0,73
А/Г	1,14±0,099	1,05±0,069 ^{**}	0,70±0,077 ^{**}	0,93±0,089	1,09±0,071
Ліпіди,ммоль/л	3,27±0,14	3,13±0,21	3,23±0,24	3,34±0,27	3,16±0,22
Сечовина,ммоль/л	4,03±0,27	4,10±0,25	4,02±0,25	3,85±0,22	4,34±0,18
Каротин, мкмоль/л	5,79±0,34 ^{***}	5,24±0,39 [*]	3,93±0,43 [*]	4,49±0,30	3,55±0,77 ^{***}
БАК,%	91,54±4,08 ^{***}	85,75±4,48 ^{***}	71,30±3,10 [*]	70,10±2,07 [*]	64,64±1,35 ^{***}

Примітка: ^{*} P <0,05; ^{**} P <0,01; ^{***} P <0,001

розвивається на яєчнику в цей період статевого циклу. Знижений вміст у крові реципієнтів III групи каротину, який стимулює антиоксидантні процеси в організмі [81], мабуть, призводить до порушення перекисного окиснення ліпідів, внаслідок чого з'являються гідроперекиси, які спричинюють зміни структури та зниження проникності мембран епітелію ендометрію. Останнє негативно впливає на підготовку ембріотрофа та ефективну імплантацію ембріона в матці тварини. У той же час нестача каротину як провітаміну А діє негативно на розвиток ендометрію. Виникнення таких процесів, очевидно, спричинило в нашому досліді зменшення приживлюваності ембріонів (у III групі на 27,5% порівняно з II групою).

Одночасна із зростанням концентрації β -глобулінів диспротеїнемія при значному вмісті в крові глюкози та зниженому рівні каротину призводить до посилення БАК і відображає патологічний стан обмінних процесів в організмі телиць-реципієнтів, який і спричинює 57-60% приживлюваності пересаджених ембріонів проти 87% у тварин з нормальним обміном.

Таким чином, саме концентрація в крові реципієнтів глюкози на 7-й день статевого циклу визначає у них стан обмінних процесів, від якого залежить рівень приживлюваності ембріонів, і може розглядатись як тест готовності організму реципієнта приживлення чужорідних ембріонів.

2.3 Природна резистентність реципієнтів та приживлюваність ембріонів

Поряд з нейроендокринною системою у регуляції обмінних процесів у організмі тварин важливе місце належить імунній системі, функції якої спрямовані на розпізнавання, запам'ятовування [82], знищення, видалення із організму всього генетично чужорідного - від мікроорганізмів і екзогенних речовин до похідних соматичних мутацій. Імунологічні дослідження свідчать про наявність в організмі тварин імунокомпетентної системи, що забезпечує його гомеостаз [83]. Феномен імунітету поділяють за ознаками розпізнавання

чужорідних тіл на неспецифічний та специфічний, а за протимікробним захистом - на видову стійкість, природну резистентність і імунну систему. Природна резистентність і неспецифічний імунітет суть одного явища, бо мають одні і ті ж фактори захисту, які розпізнають і виводять із організму чужорідні об'єкти без врахування їх індивідуальної специфіки. Фактори природної резистентності розділяють на гуморальні та клітинні. До перших належать: антитіла, комплемент, лізоцим, бактерицидна активність крові, пропердин, бактеріолізін, лактоферин, а до другого – макрофаги, лейкоцити, нейтрофіли та інші клітини [84, 85]. Клітинний і гуморальний механізм природної резистентності тварин формується і функціонує незалежно від материнського організму впродовж всього ембріо- та фетогенезу і характеризується нижчим рівнем протимікробної активності [86].

Структуру і функцію імунної системи пов'язують зі специфічним імунітетом, який розпізнає незначні відмінності між чужорідними молекулами (антигенами) та реалізує свої потенціальні можливості, взаємодіючи з факторами природної резистентності. У цьому плані БАК виступає як інтегральний показник протимікробних властивостей імуноглобулінів та комплементу. Між імуноглобулінами та γ -глобулінами існує пряма залежність [86]. Так, було встановлено вплив імуноглобулінів IgG та IgM на БАК у новонароджених телят [87]. Збільшення рівня γ -глобулінів пов'язують з неспецифічною реакцією організму на подразнення [88].

У процесі приживлення ембріонів значну роль відіграє імунна система самиць, роль якої в цьому процесі двозначна. З одного боку, статевим стероїдним гормонам властива імунодепресивна дія, з другого - без її участі не відбувається процесу приживлення ембріонів [89]. У нормі імунна толерантність перебуває у рівновазі з імунною реактивністю. Переважання останньої може бути чинником нетільності тварин [90]. Так, порушення імунологічних взаємовідносин між бластоцистою і організмом самиці внаслідок сенсibiliзації його ізоантигенами ембріона або сперміїв призводить до загибелі зародка [91]. Про постійну підготовку материнського організму до вагітності свідчить

збільшення впродовж статевого циклу активності клітинного імунітету та зменшення гуморального [92]. У той же час у корів з слабкою стресостійкістю спостерігається низька природна резистентність [93]. Сенсibilізація кролиць антигенами за тиждень до запліднення спричинює у них зменшення вмісту в крові альбумінів, збільшує рівень β - та γ -глобулінів. Вагітність настала тільки у тих самиць, у яких у сироватці підвищився рівень альбумінів та зменшився γ -глобулінів. Тож, вивчення динаміки природної резистентності у телиць-реципієнтів впродовж статевого циклу та під впливом різних чинників має велике значення для прогнозу приживлюваності ембріонів та для розробки методів її стимуляції у самиць.

Досліди проводилися нами у осінньо-зимовий період двох суміжних років [94]. У обох дослідах кров у реципієнтів брали двічі: в день трансплантації ембріонів та відповідно за 57 (I дослід) і 73 (II дослід) дні до неї. Згідно з ректальними дослідженнями, приживлюваність ембріонів у тварин I та II дослідів становила відповідно 50% та 62,5%. Дані таблиці 20 ілюструють стан природної резистентності у тварин, використаних у цих дослідах.

Згідно з даними таблиці, у другому досліді бактерицидна активність крові на 7-й день статевого циклу була вірогідно ($P < 0,01$) меншою на 21,3%, а приживлюваність ембріонів більшою на 12,5%, ніж у першому.

20. Показники природної резистентності у дослідних реципієнтів, $M \pm m$

Інгредієнт, %	Дослід I, n=20 Приживлюваність - 50%		Дослід II, n=16 Приживлюваність - 62,5%	
	за 57 днів до трансплантації	на 7-й день циклу	за 73 дні до трансплантації	на 7-й день циклу
БАК	-	68,73 \pm 1,24*	91,79 \pm 1,50	90,12 \pm 2,90*
γ -глобулінів	18,52 \pm 0,6**	11,8 \pm 0,70	13,50 \pm 0,80**	10,18 \pm 0,60

Примітка: * $P < 0,01$; ** $P < 0,001$

У обох дослідах на 7-й день статевого циклу був вірогідно ($P < 0,001$) меншим вміст у крові γ -глобулінів, порівняно з початком дослідів. При чому, у

першому він знизився на 6,7%, тоді як в другому лише на 3,3%, що можна пояснити меншим їх початковим рівнем.

Отже, успіх приживлення ембріонів залежить від рівня БАК на 7-й день статевого циклу: при меншому її рівні приживлюваність була більшою.

Для визначення впливу природної резистентності на приживлюваність ембріонів був проведений порівняльний аналіз відповідних показників тільних та нетільних реципієнтів і встановлено тенденцію, що тільні реципієнти в обох досліджах мали меншу БАК порівняно з нетільними: $81,58 \pm 2,83$ у перших проти $74,06 \pm 3,60$ у других. У той же час, у першому досліді на 7-й день статевого циклу тільні реципієнти (порівняно з нетільними) мали бактерицидну активність крові вірогідно меншу на 11,9%, а у другому між ними різниця майже не спостерігалась.

У тільних та нетільних реципієнтів на 7-й день статевого циклу вірогідно знизився вміст у крові γ -глобулінів і становив від 9,8% до 12,5% проти 13,0-19,1% на початку досліду, що ще раз підтверджує наявність чинника (можливо прогестерону), який сприяє зниженню концентрації цієї фракції білків.

Толерантність імунної системи до ембріона, який є на 50% антигеном при штучному і природному осіменінні або на 100% при трансплантації, пов'язана зі зміною функціональної активності та спрямованості імунної реактивності організму самиці під впливом нейроендокринної регуляції, в якій бере участь також і прогестерон. Тож, визначення мінливості природної резистентності залежно від морфологічної оцінки жовтого тіла яєчників на 7-й день статевого циклу має науково-практичне значення.

Аналіз показників природної резистентності свідчить, що як у тільних, так і у нетільних реципієнтів при виході верхівки жовтих тіл над поверхнею яєчника на 0,5 до 1 см (++) порівняно з телицями, що мали її меншою 0,5 см (+), БАК була нижчою на 4,7%, 5,8%. При чому у тільних реципієнтів з оцінкою жовтого тіла "+" та "++" БАК була нижча відповідно на 11,3% та 10,2%, ніж у нетільних (табл.21). Крім того, у тільних реципієнтів з оцінкою жовтого тіла "++" вона також була вірогідно ($P < 0,05$) вища на 16%, ніж у нетільних телиць з виходом

верхівки до 0,5 см (+). Це ще раз підтверджує зв'язок розвитку жовтого тіла з перебігом приживлення ембріонів, пересаджених на 7-й день статевого циклу.

21. Природна резистентність у телиць-реципієнтів з різною морфологічною оцінкою жовтого тіла яєчників, %

Показник	Оцінка жовтого тіла	Тільні			Нетільні		
		n	M±m	C _v , %	n	M±m	C _v , %
БАК	+	5	78,99±4,81	13,8	8	67,66±2,64*	7,9
	++	12	83,71±4,09*	17,1	11	73,46±5,05	22,1
	+++	3	77,37±6,07	13,7	1	-	-
γ-глобулін	+	5	11,60±2,54	49,5	4	10,50±1,19	22,9
	++	12	11,42±1,12	34,5	11	11,00±0,58	17,9
	+++	3	13,00±1,00	13,4	1	-	-

Примітка P<0,05

Отже, у телиць-реципієнтів, що мають на 7-й день статевого циклу більший розмір жовтого тіла, спостерігається низький рівень БАК, який у тільних тварин був ще нижчим (більший показник БАК відповідає нижчій біологічній активності крові).

Викладені дані підтверджують зроблені попередньо припущення щодо зв'язку БАК з рівнем приживлюваності ембріонів і свідчать, що морфологічна оцінка жовтих тіл методом ректального дослідження яєчників - необхідна умова успішного відбору телиць, придатних для пересадження зародків.

Серед багатьох факторів, що впливають на приживлюваність ембріонів, велике значення має техніка проходження катетером статевих органів від шийки до місця пересадження ембріона у розі матки. Встановлено [95], що більш м'яке проходження шийки матки забезпечує вищу приживлюваність ембріонів. Тож, вивчення особливостей реакції імунної системи на техніку пересадження ембріонів та вплив останньої на приживлюваність ембріонів відкриває можливості підвищення ефективності методу. У досліді кров у телиць відбирали із яремної вени на 6-й (вихідний рівень) та на 7-й дні

статевого циклу через годину після пересадження ембріонів. До контрольної групи (5 гол.) були включені реципієнти, у яких не можна було катетером пройти шийку матки (табл22).

22. Імунобіохімічні показники крові телиць-реципієнтів у різні дні статевого циклу, %

Інгредієнти крові	6-й день, n=12		7-й день			
	M±m	C _v ,%	Контроль, n=5		дослід, n=7	
			M±m	C _v ,%	M±m	C _v ,%
Загальний білок	8,0±0.1	4,5	8,1±0,2	4,5	7,9±0,1	4,3
Альбуміни	49,5±1.3	9,3	45,8±0.3	1,8	50,3±2,5	13,4
Глобуліни	50,5±1,3	8.9	54,2±0,4	1,5	47,7±2.5	13,5
α-глобуліни	9,8±0,7	25,5	8,2±0,4	3,0	8,9±1,2	11,7
β- глобуліни	27,9±0,7	8,4	29,4±0,16	3,0	28,3±1,2	11,7
γ- глобуліни	12,7±0,6*	18,4	16,6±0,9*	13,1	12,6±1,2	24,6
А/Г	0,99±0,05*	18,6	0,85±0,01*	3,4	1,05±0,1	32,4
БАК	83,6±2.3	9,6	75,2±3,6	10,8	87,9±11,1	33,3
ЛАК	26,2±0,29*	3,9	29,0±0,5*	4,8	29,7±0,5*	4,0

Примітка: *P<0,01; ЛАК - лізоцимна активність крові

Як видно з даних таблиці 22, на 7-й день статевого циклу у контрольних реципієнтів в крові було більше (P<0,05) γ-глобулінів на 3,9% та БАК на 8,4% порівняно з 6-м днем. У піддослідних реципієнтів на 7-й день статевого циклу був вірогідно (P<0,01) більшим порівняно з показником у початковий день рівень ЛАК. Як відомою, лізоцимна активність крові є гуморальним фактором неспецифічної резистентності тварин [96]. Тому, таку різницю можна розглядати як свідчення підвищення природної резистентності у контрольних тварин внаслідок травмування шийки матки. У дослідних реципієнтів середні дані показників на 7-й день статевого циклу, за винятком ЛАК, порівняно з такими на 6-й день не мають значної різниці. Але у цих тварин на 7-й день циклу вищі коефіцієнти варіації γ-глобулінів на 11,5%, а БАК більше ніж у три рази в порівнянні з 6-м днем, що свідчить про певну індивідуальну реакцію тваринного організму.

Аналіз зміни цих показників відносно середньої на 7-й день статевого циклу переконує, що зростання мінливості пов'язане із збільшенням у 70% реципієнтів в крові рівня γ -глобулінів та БАК (табл.23).

23. Індивідуальна різниця між показниками природної резистентності реципієнта та їх середніми значеннями у різні дні статевого циклу, %

Індивідуальний № реципієнта	БАК		γ -глобуліни	
	6-й день	7-й день	6-й день	7-й день
2448	+2.11	+13,61	+1,7	+4,6
2530	-5,75	+11,56	-5,3	-4,4
2534	+5,58	+14,55	-1,3	-0,4
2504	-12,55	+16,52	+2,7	-1,4
2503	+11,70	+27,60	-0,3	-1,4
2624	-1,40	+37,62	+3,7	+3,6
2614	+0,23	-48,66	-0,7	-0,4

Зростання рівня БАК та ЛАК у реципієнтів через годину після пересадження не вплинуло негативно на приживлюваність ембріонів, хоча їх рівень у тільних реципієнтів (7-й день циклу) збільшився на 13,2% та 9,5% ($P < 0,05$) порівняно з їх вмістом на 6-й день статевого циклу. Концентрація γ -глобулінів у крові тварин залишилась без змін. Слід відмітити, що в цьому досліді простежується тенденція залежності приживлюваності ембріонів від рівня концентрації γ -глобулінів у крові телиць-реципієнтів на 6-7-й день статевого циклу. Так, у ці дні вміст γ -глобулінів у крові тільних реципієнтів був на 2,6% та 2,8% менший, ніж у нетільних тварин (табл.24).

У нетільних реципієнтів після пересадження ембріонів зростає бактерицидна активність крові на 11,6% порівняно з 6-м днем циклу, тоді як лізоцимна активність та рівень концентрації γ -глобулінів збільшуються лише в межах помилки. Збільшення рівня БАК у нетільних тварин під впливом подразнюючого фактора є підставою для погляду, що для успішного прижив-

24. Показники природної резистентності у тільних та нетільних дослідних телиць-реципієнтів у різні дні статевого циклу, $M \pm m$, %

Показник	День статевого циклу			
	6-й (n=5)		7-й (n=4)	
	тільні	нетільні	тільні	нетільні
γ -глобуліни	11,20 \pm 0,80	13,80 \pm 1,10	11,50 \pm 1,70	14,30 \pm 0,95
БАК	84,82 \pm 2,84*	81,56 \pm 3,12	73,64 \pm 1,19*	69,92 \pm 4,95*
ЛАК	26,81 \pm 0,74*	28,07 \pm 2,00	29,60 \pm 0,47*	28,84 \pm 0,94

Примітка: * $P < 0,05$

лення пересаджених ембріонів середній рівень показника - 73,6%, який спостерігався у тільних тварин на 7-й день статевого циклу, може бути крайньою максимальною межею оптимального рівня цього показника природної резистентності під час оцінки реципієнтів.

Таким чином, навіть обережне, нетравмуюче проходження катетером статевих органів реципієнта при пересадженні ембріона спричинює посилення нейрогуморальної відповіді: вірогідне ($P < 0,05$) збільшення на 11,2% та 2,8% (до 73,64 \pm 1,19% та 29,60 \pm 0,47%) бактерицидної та лізоцимної активності крові, що, однак, не позначається негативно на процесі приживлення. Ускладнене ж проходження катетером шийки матки призводить до збільшення БАК та концентрації γ -глобулінів в крові реципієнтів, справляючи негативний вплив на приживлюваність ембріонів.

2.4 Визначення залежності між швидкістю росту та приживлюваністю ембріонів у реципієнтів

Основним об'єктом для пересадження ембріонів слугують телиці, що досягають статевої зрілості раніше, ніж закінчується їх ріст, а інтенсивність росту та відтворна функція, як відомо, залежать від рівня обміну речовин в організмі тварини. Внаслідок взаємодії цих фізіологічних процесів можуть виникати умови, що призводять до пригнічення одного з них.

Вивчення впливу інтенсивності росту телиць-реципієнтів на приживлюваність у них ембріонів, крім загально біологічного значення для теорії відтворення, має економічну доцільність з огляду на зазначені вище особливості. Актуальність досліджень у цьому напрямку безумовна в плані визначення критеріїв відбору телиць-реципієнтів за рівнем їх середньодобового приросту та можливостей його врахування при застосуванні стимуляції приживлення ембріонів.

У науково-виробничому досліді живу масу телиць-реципієнтів впродовж чотирьох місяців визначали методом індивідуального зважування щомісяця в одну дату [97]. На третьому місяці досліді телицям трансплантували "відмінні" та "добрі" ембріони. Статеву охоту у них стимулювали двічі. Через три місяці після трансплантації ембріонів телиці-реципієнти на підставі ректального дослідження були розділені на дві групи: тільні та нетільні.

За живою масою між дослідними групами, як показав аналіз даних, різниця була в межах помилки. Так, у період пересадження в телиць-реципієнтів вона становила $383,6 \pm 5,9$ кг у тільних проти $384,7 \pm 9,8$ кг у тих, що залишились нетільними. Варіабельність цього показника по групах не перевищувала 10%.

Інша картина спостерігається при аналізі швидкості росту, охарактеризованою середньодобовим приростом за кожний місяць досліді. У нетільних реципієнтів впродовж першого та другого місяця до трансплантації щомісячний середньодобовий приріст був більшим відповідно на 19,1% та 7% порівняно з тими, що стали тільними. У місяць, в який відбулася трансплантація ембріонів, швидкість росту реципієнтів у групах була майже однаковою. Але в останній місяць дослідження середньодобовий приріст тільних тварин був меншим на 24,2%, ніж у нетільних, що ймовірно пов'язане з процесом приживлення ембріонів (табл.25).

Наведене вище не дозволяє з впевненістю стверджувати наявність зв'язку приросту живої маси реципієнта з приживлюваністю трансплантантів, оскільки різниця між приростом у тварин досліджуваних груп виявилася невірною. Якщо ж обчислити швидкість росту за періоди, визначені з врахуванням дати

пересадження ембріонів, тобто фізіологічного стану тварини, результат достатньо переконливий. Впродовж 30 днів до пересадження (І період), відбу-

25. Середньодобовий приріст живої маси телиць-реципієнтів, г

Місяць досліду	Тільні, n=20		Нетільні, n=17	
	M±m	C _v , %	M±m	C _v , %
1-й	875,3±92,6	46,8	708,5±65,8	37,2
2-й	692,1±65,7	42,4	646,6±62,8	40,0
3-й	717,2±56,5	35,2	731,5±58,0	32,7
4-й	628,2±51,0	36,3	828,3±111,6	55,5

лися: двократна обробка тварин простагландінами, проява феноменів статевого циклу, відбір крові та пересадження ембріонів. Таку ж кількість днів має період після пересадження (II), під час якого у реципієнтів відбувається імплантація ембріонів. Періоди III та IV тривалістю 60 і 90 днів до пересадження включають I період та дні, за які перед тим відбулися 2-4 спонтанних статевих цикли. Весь дослід тривав 120 днів (V) і складався з усіх названих періодів (рис.3.).

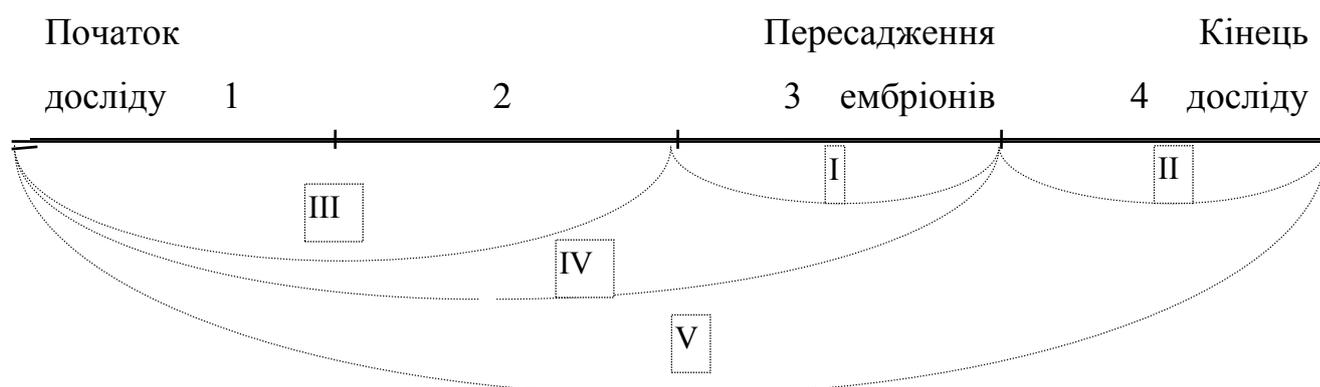


Рис. 3. Схема поділу дослідження за фізіологічним станом реципієнтів (I та II період - 30 днів до та після пересадження ембріонів; III, IV період - 60 та 90 днів до пересадження ембріонів; V - 120 днів дослідження; 1-4 - місяці дослідження)

Для зменшення варіабельності середньодобового приросту, що характеризує швидкість росту живої маси, тварин в кожному періоді згрупували в два класи. Враховуючи, що для функції відтворення телиць 700г вважається оптимальним середньодобовим приростом живої маси, у перший клас потрапили реципієнти із показником, меншим 700 г, а в другий - з більшим. У межах цих класів для кожного періоду в реципієнтів була визначена приживлюваність пересаджених ембріонів.

Графіки, побудовані на підставі одержаних даних, свідчать: якщо за 30 днів до пересадження тварини мали вірогідно більшу на 30,5% швидкість росту, приживлюваність у них зросла на 7,4%, а при вищих ($P < 0,001$) середньодобових приростах за 90-денний період вона становила 59% проти 46,7% у тварин з нижчим приростом. Інша закономірність спостерігалась у перші 30 днів після трансплантації ембріонів. Більший на 24,4% рівень приживлюваності був у реципієнтів з вірогідно меншим середньодобовим приростом живої маси. Тобто, ефективне приживлення ембріона у матці гальмує процеси росту у організмі самиці (рис.4).

Аналіз швидкості росту реципієнтів за весь дослід (120 днів) показав, що найбільша приживлюваність спостерігалась у тих, які мали середньодобовий приріст у межах 570-840 г. Як зменшення, так і збільшення його на класовий інтервал, що складав 270г ($P < 0,001$), призводить до зниження приживлюваності на 26% та 16,8% (табл. 26).

Отже, можна з впевненістю стверджувати існування зв'язку між процесами росту телиць-реципієнтів та приживлюваністю у них ембріонів, тобто морфофункціональні процеси, пов'язані з відтворенням, вимагаючи певних енергетичних та пластичних метаболітів, через нейроендокринну регуляцію вступають у конкуренцію з процесами росту та протидіють приживленню ембріонів. Для визначення рівня середньодобового приросту, що супроводжується максимальним рівнем приживлюваності ембріонів, телиць-реципієнтів у кожному періоді розподілили за цим показником у класи з інтервалом 50 г. Було визначено 12 класів з чисельністю по 1-5 тварин. Малочи-

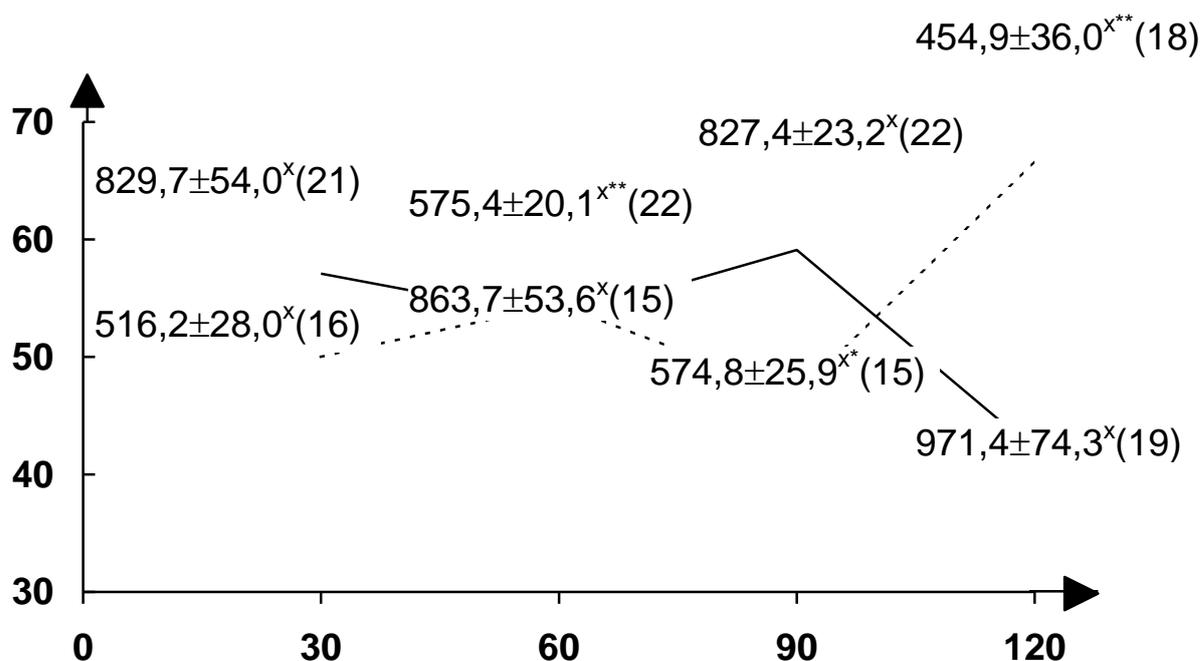


Рисунок 4. Приживлюваність ембріонів у реципієнтів з різним рівнем середньодобового приросту живої маси за фізіологічний період (— - клас > 700 г; - - - - - клас < 699; X - фізіологічний період; Y - рівень приживлюваності ембріонів, %; 829,7±54,0 - середньодобовий приріст по групі, г; (21) - кількість реципієнтів; ^x - вірогідність між класами P<0,001; * - вірогідність в межах класу *P<0,05, **P<0,01)

26. Приживлюваність ембріонів залежно від рівня приросту живої маси реципієнта

Клас середньодобового приросту, г	Середньодобовий приріст за 120 днів, M±m, г	C _v , %	Кількість пересаджень	Тільних реципієнтів, гол.	Приживлюваність, %
300-570	416,7±48,3 [*]	20,3	3	1	33,3
571-840	697,6±13,0 [*]	9,7	27	16	59,3
840-1110	944,6±136,8 [*]	10,1	7	3	42,9

Примітка *P<0,001

сельні класи за рівнем приживлюваності та приросту були об'єднані, за винятком класу 721-770 .

Згідно з даними таблиці 27, найбільша приживлюваність ембріонів була у реципієнтів із середньодобовим приростом на рівні 721-770 г. У цьому класі названий показник був найвищим і порівняно з деякими класами вірогідно більшим. У тварин з класу 621-670 г (не представлений в таблиці) за 30-та 60-денний періоди він спостерігався на рівні 85%, але в інтервалі 90 днів знизився і становив - $62,8 \pm 4,8\%$.

27. Приживлюваність ембріонів залежно від середньодобового приросту живої маси реципієнтів у різних періодах

Клас середньо- добового приросту, г	Приживлюваність ембріонів за період, %			Кількість пересад- жень	Приживлювані- сть, (%) у межах класу, $M \pm m$,
	30 днів	60 днів	90 днів		
300-570	60,0	57,1	20,1	22	$45,7 \pm 12,8$
571-720	53,8	50,0	50,0	41	$51,3 \pm 1,30^x$
721-770	80,0	75,0	100,0	10	$85,0 \pm 7,63^x$
771-920	61,5	50,0	46,2	38	$52,6 \pm 4,6^x$
$M \pm m$	$65,0 \pm 12$	$58,0 \pm 5,9$	$52,9 \pm 12,6$	-	-

Примітка $^xP < 0,05$.

За приживлюваністю в кожному періоді вірогідної різниці між класами не виявлено. Тобто, для досягнення вищої її ефективності, має сенс визначення у телиць-реципієнтів середньодобового приросту за будь-який термін, починаючи з 90-го дня до пересадження. Але тенденція підвищення приживлюваності на тлі певної швидкості росту живої маси телиці в період за 30 днів до пересадження ембріонів та технологічна зручність цього прийому, з огляду на підготовку реципієнтів до трансплантації, є підставою для рекомендації брати до уваги рівень середньодобового приросту саме за цей період. Тож, якщо в розпорядженні біотехнолога є менше ембріонів, ніж реципієнтів із добре розвинутими жовтими тілами, то їх краще пересаджувати тим тваринам, що за 30-90 днів перед цим мали середньодобовий приріст на

рівні 720-770 г. Приживлення ембріонів значно нижче, якщо середньодобовий приріст у передтрансплантаційний період на рівні 400 г. Середньодобовий приріст живої маси телиці у межах 720-770 г за 30-90 днів до пересадження ембріонів є оптимальним і забезпечує $85 \pm 7,6\%$ їх приживлюваності. Отже, зв'язок між процесами росту та відтворною функцією у телиць незаперечний.

2.5 Приживлюваність ембріонів залежно від генотипу реципієнтів за трьома системами поліморфних білків

Практика використання біотехнологічних методів відтворення великої рогатої худоби пов'язана з недостатньо визначеними положеннями щодо біологічної сумісності батьківських пар, також не в повній мірі з'ясована сумісність між ембріотрансплантантом та реципієнтом на підставі їх гомо - чи гетерогенності у підборі за генетичними ознаками.

Дослідження, проведені на великій рогатій худобі, конях та свинях, виявляють у них досить складну картину щодо статевої імунної вибірковості. Встановлено, що генетична подібність чи, навпаки, відмінність впливають на показник відтворення, але по різному, в залежності від специфіки як алельних систем, так і схрещуваних порід [98-100]. Так, використання тесту на визначення батьківських пар за імунною поєднаністю продуктів біосинтезу органів відтворення (за алергічною реакцією самиці на підшкірне введення мікродоз сперми самців) обумовили при штучному осіменінні збільшення приживлюваності ембріонів на 27 - 46% [101].

Дослідження виявили, що кожна порода має досить усталену частотну характеристику свого алелофонду [102]. Постійність структури останнього підтримується специфічною для кожної породи динамікою відбору алельних комплексів. Динамікою відбору алелотипів формується і підтримується в певній чисельності в стаді група генотипів, найбільш пристосованих як до умов утримання, так і селекції. Але ж немає підстав вважати, що відбір не діє ще в періоди до- і ембріонального розвитку. Методи біотехнології дають змогу

дослідити механізм відбору на стадіях самого раннього онтогенезу, що досі було неможливим.

Враховуючи це, постало завдання проаналізувати результати пересадок ембріонів залежно від генотипу реципієнтів за трьома системами поліморфних білків крові. При цьому мали на меті визначити характеристику генотипу не тільки за алельним складом того чи іншого локуса, а й сукупності двох-трьох локусів. Слід зазначити, що вісім генів, які у великої рогатої худоби контролюють поліморфні білки - трансферин, амілаза та церулоплазмін, - можуть створювати 90 варіантів генотипів. Тож, виявити закономірність приживлення ембріонів залежно від цих генотипів можливо лише на численній вибірці.

Фенотип тварин стада ВАТ "Племзавод Бортничі" поліморфними системами крові (трансферин, амілаза та церулоплазмін) визначали за методом електрофорезу сироватки крові в крохмальному гелі [103].

Аналіз генотипів реципієнтів проводили в двох напрямках. Перший був присвячений визначенню алельного складу у тварин, в яких ембріони прижилися, а другий - у нетільних реципієнтів. Серед телиць-реципієнтів повних гомозигот та гетерозигот за трьома системами було 13,7% та 11,6% відповідно. При цьому із підвищенням гомозиготності приживлюваність ембріонів була суттєво нижчою (на 60 та 57,8%). Найбільша приживлюваність (83,4%) виявлена у тварин - гетерозигот за трьома системами (табл.28).

Враховуючи це, можна вважати, що відбір гетерозигот за генотипом, за умов забезпечення факторами середовища оптимального перебігу обмінних процесів у організмі тварин, дасть можливість при пересадженні аналогічних за якістю ембріонів досягти їх приживлюваності на рівні 83% лише у 7,5-9% поголів'я реципієнтів стада племзаводу [104].

Якісний аналіз генотипу показав залежність рівня приживлюваності ембріонів від наявності в реципієнта певного гена поліморфних білків. Так, найбільша приживлюваність - 54,5% та 46% - була у тварин з генами амілази В і трансферину А, а найменша (34,4%, 36,4%, 38,9% та 34,7%) - С, Д₁, Д₂, та церулоплазміну В.

28. Приживлюваність ембріонів у реципієнтів залежно від кількості генів поліморфних білків

Реципієнти	Сукупність генів							
	3*		4**		5***		6****	
	ГОЛ.	%	ГОЛ.	%	ГОЛ.	%	ГОЛ.	%
Тільні	4	57,8	9	60	10	43,5 ⁺	5	83,4 ⁺
Нетільні	3	42,2	6	40	13	56,5	1	16,6
Всього у вибірці	7	13,7	15	29,4	23	45,1	6	11,8

Примітка: 3* гомозиготи та 6**** гетерозиготи за трьома системами; 4** гомозиготи за двома системами; 5*** гомозиготи за однією системою; ⁺ - P<0,05

Дослідження фенотипу тварин за трансферином показали, що приживлюваність ембріонів залежить від алеля, який його контролює, у високому ступені. Так, у гомозиготних тварин з геном Д₂ не імплантувався жоден ембріон, а наявність цього гена в гетерозиготному фенотипі знизилу приживлюваність ембріонів до 28%. У реципієнтів же гомозиготного за геном А фенотипу була вища приживлюваність ембріонів - 66,7% (табл.29).

29. Приживлюваність ембріонів у реципієнтів залежно від фенотипу за трансферином

Фенотип	Всього, гол.	Тільних, гол.	Приживлюваність, %
АА	9	6	66,7
АД ₁	4	2	50,0
АД ₂	15	5	33,3
Д ₁ Д ₂	7	2	28,6
Д ₂ Д ₂	3	0	0

Оскільки у стаді племзаводу 52,5% маточного поголів'я мають у генотипі ген Д₂ [105], що поєднується з кращими адаптивними властивостями тварин,

гомозиготних за алеллю Tf^d [106], це може негативно впливати на рівень приживлюваності ембріонів при біотехнологічних методах відтворення.

Визначити вплив комплексу алелей, амілази й церулоплазміну на досліджуваному поголів'ї дуже важко через малу чисельність груп. Але слід відмітити високу (80%) приживлюваність ембріонів у тварин із гетерозиготним фенотипом та приживлення їх у особин із фенотипом за амілазою і церулоплазміном відповідно CC+AB і BB+BB (табл.30).

30. Приживлюваність ембріонів у реципієнтів залежно від комплексу алелів амілази і церулоплазміну

Фенотип:амілаза +церулоплазмін	Всього, гол.	Тільні, гол.	Приживлюваність,%
BC + AB	5	4	80
BC + AA	7	2	28,6
BC + BB	4	2	50
CC + AB	8	0	0
BB + AB	2	1	50
BB + BB	3	0	0
CC + AA	4	3	75
CC + BB	4	2	50
BB + AA	1	1	100

Установлено [107], що 55,7% і 67,9% голштинських корів, які мають відповідно гомозиготні алелі CC і BB, схильні до захворювання на субклінічний кетоз. Крім того, аналіз генотипу 11 реципієнтів за трансферином свідчить про наявність у 81,8% із них (9 гол.) гена D₂, який, виходячи з наших даних, негативно впливає на приживлюваність ембріонів.

Проведені дослідження показали необхідність вирішення загальнобіологічного питання щодо можливостей оцінки тварин за генотипом у пренатальний період, маючи на меті підвищення ефективності методу трансплантації

ембріонів шляхом цілеспрямованого підбору найбільш ефективних пар плідник-донор, донор-реципієнт та трійок: - плідник - донор - реципієнт.

Хоч найбільша (83,4%) приживлюваність ембріонів спостерігається у повних гетерозигот за системами трьох досліджуваних поліморфних білків, стверджувати, що гетерозиготність чи гомозиготність має профілюючий вплив на приживлюваність ембріонів не можна, оскільки вона в більшому ступені залежить від окремих алелів, формуючих фенотип за поліморфними білками - трансферином, амілазою, церулоплазміном.

3 СПОСОБИ СТИМУЛЯЦІЇ ПРИЖИВЛЮВАНОСТІ ЕМБРІОНІВ ТЕЛИЦЬ-РЕЦИПІЄНТІВ

Економічна та селекційна ефективність трансплантації ембріонів ґрунтується на одержанні у донорів під час суперовуляції придатних для пересадження ембріонів та успішній їх приживлюваності у телиць-реципієнтів. Рівень приживлюваності ембріонів у телиць-реципієнтів у своїх дослідженнях на рівні 35-75% ряд авторів [108, 109] пояснили впливом на цей процес досить великої кількості факторів. Цілком слушною є думка, що приживлюваність ембріонів залежить, крім біологічної повноцінності самого зародка, від екзогенних впливів, опосередкованих через материнський організм. Повноцінність ембріонів та їх виживаність під час трансплантації в значній мірі обумовлена компонентами раціонів як донорів, так і реципієнтів. На жаль, аналіз доступної літератури засвідчив недостатню висвітленість цієї проблеми.

Корекція обмінних процесів у реципієнтів для підвищення приживлюваності трансплантованих ембріонів потребує розробки певних технологічних прийомів. У першу чергу, це стосується використання в раціонах комплексу БАР та парентерального введення відповідних препаратів, для чого було проведено декілька серій дослідів з метою перевірки їх впливу на приживлюваність ембріонів у телиць-реципієнтів.

3.1 Корекція раціонів реципієнтів балансуванням мікроелементами

Сучасний стан матеріалів щодо впливу мікроелементів на репродуктивну функцію худоби - вагома підстава припущення їх впливу, зокрема, і на рівень приживлюваності у телиць-реципієнтів пересаджених ембріонів. Особливо ефективним такий вплив може бути у поєднанні з застосуванням біологічно активних речовин (БАР), в тому числі сучасних вітамінних та гормональних препаратів, а також кормових добавок, уже апробованих чи нових.

Перший науково-господарський дослід був спрямований на розробку прийомів корекції обмінних процесів у телиць-реципієнтів шляхом годівлі їх за раціонами, збалансованими (згідно з нормами) за мікроелементами та з добавками вуглеводно-вітамінних препаратів (тетравіт внутрішньом'язово та глюкоза 40%-ва під шкіру). Крім того, враховуючи зв'язок іонів міді з процесами обміну вуглеводів [110], важливо було дослідити її вплив на приживлення пересаджених ембріонів. Для дослідження було сформовано три групи пар-аналогів по сім тварин у кожній. В основний період (ОП) до раціону дослідних телиць (II група) були включені солі міді, кобальту, марганцю та цинку, а тваринам III групи замість сірчаноокислої міді до раціону ввели калій йод, I група – контрольна (без добавок).

На підставі біохімічних досліджень крові телиць були виявлені зміни в обмінних процесах білків, вуглеводів, жирів та вітамінів, за показниками яких переважно дають оцінку метаболічного профілю корів [111].

На початку основного періоду між дослідними групами вірогідної різниці за досліджуваними показниками виявлено не було. Виняток становила концентрація сечовини та загальних ліпідів ($P < 0,01, 0,001$). У тварин III групи також вірогідно збільшилась концентрація загального білку та γ -глобулінів.

Після другої синхронізації статеву охоту було виявлено у всіх реципієнтів, за винятком однієї голови з контрольної групи. Між групами спостерігались відмінності за ступенем статевого збудження, яке кваліфікувалось як сильне – при неспокійній поведінці тварини, великій кількості слизу, значній гіперемії

слизової передвір'я та значному набряканні статевих губ; середнє - телиця спокійна за наявності інших ознак; слабке – відсутність збудження, інші ознаки мають меншу кількісну характеристику. У ІІІ дослідній групі у всіх телиць статеве збудження характеризувалось високим ступенем прояву, аналогічно реагували в ІІ групі 71,4% тварин, а в контрольній лише 42,8% (табл. 31).

31. Приживлюваність ембріонів та ступінь статевого збудження у піддослідних телиць, гол.

Група	Приживлюваність, %	Статеве збудження		
		сильне	середнє	слабке
I	50	3	1	3
II	50	5	1	1
III	33	7	-	-

Через три місяці після пересадження ембріонів ректальними дослідженнями було встановлено, що в контрольній та ІІ дослідній групах їх приживлюваність становила 50%, у тварин ІІІ групи тільки 33%. Нижчу приживлюваність ембріонів у тварин з більшим статевим збудженням можна пов'язати зі значним вимиванням йоду з щитовидної залози, яке, за даними літератури [112], відбувається у організмі тварин за дефіциту міді та достатньої наявності кобальту і марганцю. Можливо, застосована в досліді доза йоду у поєднанні з відсутністю добавки міді була недостатньою, що особливо важливо в період приживлення ембріонів.

На 7-й день статевого циклу у піддослідних реципієнтів, яким у період стимуляції статевої охоти естрофаном вводили 40%-ву глюкозу разом з вітамінами, приживлюваність ембріонів була 50% на фоні вірогідного зниження концентрації каротину та збільшення вмісту сечовини і загальних ліпідів.

Отже, проведені дослідження показали, що підгодівля мікроелементами реципієнтів має бути комплексною. У реципієнтів, у раціоні яких мікроелементні добавки були з йодом, але без міді, статеве збудження характеризувалось високим ступенем прояву. У них у крові на 7-й день статевого циклу збільши-

лась концентрація γ -глобулінів на 6,4% ($P < 0,05$), загального білку і ліпідів на 11,4%, 25% ($P < 0,01$) та вірогідно зменшився вміст каротину порівняно з початком основного періоду, що спричинило зниження на 16,7% приживлюваності пересаджених ембріонів проти 50% у контролі та II дослідній групі.

Відомо, що біологічна дія природних сорбентів у складі раціону полягає у поєднанні їх сорбційних, іонообмінних та каталітичних властивостей. Вони беруть участь у транспортуванні, активізації і пролонгуванні дії ферментів та гормонів, підтриманні іонної рівноваги в травній системі, адсорбують продукти метаболізму (аміак, меркаптан), радіонукліди, солі важких металів, детоксикаційно діють на мікотоксини, нітрити, згубно впливають на мікроорганізми [113]. Усі ці властивості обумовили включення природного сорбенту - хумоліту до складу мінерального премікса.

Цілком правомірним було передбачення, що поєднанням біологічної дії мікроелементів та природних сорбентів можна не лише нормалізувати обмінні процеси в організмі телиць-реципієнтів, а й сприяти певним біохімічним змінам у їх репродуктивній системі, які стимулюватимуть приживлення ембріонів у худоби. У ВАТ "Племзавод Бортничі" був проведений другий дослід, в якому тваринам (II група) згодовували хумоліт із розрахунку 0,5 г на 1 кг живої маси. Телицям (III група) мікроелементи в вигляді сірчаноокислих солей згодовували разом із хумолітом, посипаючи його на комбікорм. Премікс давали впродовж 3-х місяців. Контрольна група (I) сорбенту не одержувала.

Різниця за живою масою між контрольною та дослідними групами на початку основного періоду становила відповідно 1,6% та 2,8% (II група - $346,3 \pm 11,3$ кг та III - група - $356,5 \pm 10,3$ кг проти $350,7 \pm 11,2$ кг в I групі) У кінці досліду жива маса реципієнтів II та III груп була меншою на 2,7% ($416,4 \pm 9,3$ кг) та 1,2% ($421,5 \pm 13,5$ кг) порівняно з контрольною ($426,5 \pm 12,2$).

Приріст живої маси у телиць III групи, який характеризує інтенсивність росту, в основний період був найвищим. За весь дослід цей показник у них був більшим на 7,2 і 14,6% порівняно з тваринами контрольної та II груп. Найбільша - на 15% - різниця швидкості росту ($807,2 \pm 75,2$ проти $702,5 \pm 72,3$ г)

порівняно з контрольною групою спостерігалася в кінці другого місяця основного періоду.

Особливо значне зниження (на 107,2 г) середньодобового приросту відбулося в II групі на третьому місяці дослідження, що свідчить про негативний вплив хумоліту на організм телиці-реципієнта за умови згодовування його понад два місяці без добавки мікроелементів.

Аналіз імунобіохімічних показників свідчить про негативний вплив на обмінні процеси у телиць-реципієнтів згодовування хумоліту впродовж трьох місяців (табл.32, 33).

32. Вміст макро- і мікроелементів у крові дослідних тварин у кінці дослідження, мг/л

Інгредієнти крові	Група					
	I (n=11)		II (n=10)		III (n=11)	
	M±m	C _v ,%	M±m	C _v ,%	M±m	C _v ,%
Кальцій	245,7 ± 4,3	5,6	256,0 ± 5,9	10,1	261,8 ± 6,2*	7,8
Цинк	0,59 ± 0,02	13,9	0,64 ± 0,01*	8,3	0,65 ± 0,02*	9,0
Мідь	1,24 ± 0,05	14,3	1,11 ± 0,06	18,7	1,17 ± 0,05	14,6
Марганець	0	-	0	-	0,09 ± 0,02 [»]	39,4
Кобальт	Сліди	-	Сліди	-	Сліди	-
Неорганічний фосфор, ммоль/л	1,56 ± 0,05	11,7	1,78 ± 0,06**	10,8	1,86 ± 0,01**	17,9

Примітка: *P<0,05; **P<0,01; [»] - виявлено в крові трьох реципієнтів.

Так, у тварин II групи в кінці дослідження в крові було вірогідно (P<0,05) менше глюкози, β-глобулінів, каротину, але більше сечовини (відповідно на 12,7, 7,2, 22,3 та 16,2%), ніж у реципієнтів контрольної групи. У цих тварин на фоні збільшення вмісту в крові цинку, фосфору, кальцію, не було марганцю та зменшився рівень міді - відповідно на 7,8 (P<0,05), 12,4 (P<0,01), 4,1 та 10,5%. Одночасно у крові телиць II групи зменшився вміст нітратів та нітритів. Такі

33. Імунобіохімічні показники крові телиць-реципієнтів з різною приживлюваністю ембріонів на початку основного періоду (ОП) та перед пересадженням (пп) , $M \pm m$

Інгредієнт крові	Група реципієнтів					
	І (контроль, n=11), приживлюваність ембріонів - 60%		II (n = 11), приживлюваність ембріонів - 50%		III (n = 11), приживлюваність ембріонів - 60%	
	початок ОП	пп	початок ОП	пп	початок ОП	пп
Загальний білок, г/л	70,8±1,5 ^{***}	74,3±1,0	71,4±1,6 ^{***}	74,1±1,0	80,3±1,4 ^{***}	75,6±0,6 ⁺⁺⁺
Альбуміни, %	46,5±3,8 [*]	50,3±1,6	39,2±2,7	54,0±3,0 ⁺⁺	37,8±1,5 ⁺⁺⁺	50,4±1,3 ⁺⁺⁺
α-глобуліни, %	14,7±2,5	10,5±0,6	17,3±1,4	15,3±3,8	17,8±1,2	11,1±0,6 ⁺⁺⁺
β- глобуліни, %	25,2±2,8	28,8±1,1 ^{**}	30,8±1,5	21,6±1,8 ^{**}	30,0±1,9	27,5±1,0 [*]
γ- глобуліни, %	13,5±0,7	10,3±0,9	12,3±1,2 ⁺	9,10±0,5 ⁺	14,4±1,2 ⁺⁺	11,0±1,0 ⁺⁺
Сечовина, ммоль/л	3,81±0,28	3,54±0,16 ^{**}	4,46±0,23	4,21±0,18 ^{**}	5,71±0,43 ^{**+}	4,68±0,24 ^{**+}
Загальні ліпіди, ммоль/л	3,68±0,3	3,64±0,15	3,41±0,2	3,39±0,15	3,16±0,2	3,21±0,16
Каротин, мг%	7,29±0,56	6,73±0,37	6,73±0,56	5,24±0,75	6,17±0,75	6,17±0,37
Глюкоза, ммоль/л	-	2,27±0,05 [*]	-	1,98±0,11 [*]	-	2,24±0,08
Нітрати, мг% ^x	-	9,35±0,58	-	7,98±0,42	-	8,15±0,03
Нітроти, мг% ^x	-	0,43±0,02 [*]	-	0,39±0,01 [*]	-	0,36±0,003 [*]
БАК, %	90,2±2,5	93,0±1,54	90,4±1,54	90,7±3,10	87,9±2,52	87,6±4,0

Примітка: ^x n = 3; Різниця: ⁺в групі - ⁺P<0,05; ⁺⁺P<0,01; ⁺⁺⁺P<0,001; ^{*} між групами - ^{*}P<0,05; ^{**}P<0,01; ^{***}P<0,001.

зміни в обміні речовин спричинили нижчий рівень приживлюваності ембріонів, який у них становив 50% проти 60% у контролі.

Отримані результати підтверджують припущення, зроблені в першому досліді, щодо негативного впливу низького рівня міді в крові на приживлюваність ембріонів, зумовлюючого порушення в процесах обміну вуглеводів. Про це свідчить і низький вміст глюкози та каротину в крові реципієнтів, що можна також розглядати як підтвердження правильності наших висновків щодо важливої ролі саме цих метаболітів у процесах приживлення ембріонів.

У реципієнтів III групи на початку дослідження обмінні процеси в організмі були характерними для субклінічного кетозу [73]. Так, у них у крові був вірогідно більший рівень загального білку та сечовини, менший – альбумінів, відповідно на 11,2, 33,3 та 8,7%. Згодовування мінерально-вітамінного премікса сприяло нормалізації обмінних процесів. У кінці основного періоду на фоні вірогідного зниження вмісту загального білку та сечовини відбулося підвищення, але не більше ніж у контрольних самиць, концентрації альбумінів - високодисперсної фракції крові. Крім того, в крові телиць знизилась концентрація нітратів (на 12,8%) і нітритів (на 16,3%, $P < 0,05$), але збільшився вміст кальцію ($P < 0,05$), фосфору ($P < 0,01$), цинку ($P < 0,05$) - відповідно на 7,2, 16,2 та 9,3%, у трьох тварин виявили марганець, але рівень міді у них був майже такий, як у контролі ($P < 0,05$). Ці зміни в обмінних процесах у реципієнтів забезпечили 60% приживлюваності ембріонів.

Отже, 3-місячне згодовування лише хумоліту в дозі 0,5 г на кг живої маси телиць, негативно впливає на процеси росту та викликає такі зміни в обмінних процесах, які протистоять приживленню ембріонів у статевих органах. У той же час згодовування його разом з мікроелементами, нормалізуючи обмін речовин у організмі реципієнта, сприяє приживленню ембріонів.

Теоретична передумова використання БАР у період стимуляції статевої охоти тварин полягає у включенні їх як субстрату до енергетичних та пластичних процесів обміну в репродуктивних органах і гіпоталамо-

гіпофізарно-яєчниковій ендокринній системі з метою поліпшення умов розвитку ембріонів та стимуляції їх приживлення.

Таким субстратом є глютамінова кислота, яка забезпечує синтез білку та інших біологічно активних речовин, бере участь у біосинтезі незамінних амінокислот [114], займає центральне місце в процесах переамінування, вступає в реакції вуглеводного обміну і є одним із джерел глікогену. Отже, ця амінокислота в організмі займає проміжне місце між пластичними та енергетичними обмінними процесами, тобто при зміні функціонального стану тканин та органів вона може включатися у різні метаболічні перетворення [115].

Іншим метаболітом, який бере активну участь в енергетичних процесах у всіх органах та тканинах, що має вирішальне значення для розвитку і приживлення ембріонів у статевих органах, належить глюкозі. Нами був встановлений значний вплив рівня глюкози в крові реципієнтів на приживлюваність у них пересаджених ембріонів та відсутність негативного впливу на цей процес екзогенного введення глюкози тваринам у період стимуляції простагландинами статевої охоти.

На основі названих метаболітів був розроблений біологічно активний препарат "Глютам," до складу якого входять такі інгредієнти з розрахунку на 1000 мл дистильованої води, г: глютамінової кислоти - 20, глюкози 40%-вої - 20, бікарбонату натрію - 11,2 [116].

Необхідність експериментальної перевірки впливу препарату на приживлення ембріонів і обумовила проведення дослідів. У основний період в раціони телиць-аналогів II та III групи були введені мідь, кобальт, марганець, цинк та йод згідно з нормою. Телицям III групи в період кожної стимуляції статевої охоти вводили внутрішньовенно 4 рази біологічно активний препарат "Глютам" у дозі 125 мл: за два дні до введення простагландину та у наступні два дні, включаючи день обробки ремофаном. Всього здійснено 8 ін'єкцій "Глютаму". Піддослідним тваринам в період стимуляції ремофаном статевої охоти внутрішньом'язово вводили "Тетравіт" у дозі 10 мл.

Критерієм перебігу обмінних процесів, в першу чергу, може бути зміна живої маси, відповідні дані подано в таблиці 34.

34. Зміна живої маси дослідних телиць, кг

Періоди дослідів	Групи					
	I (контрольна)		II		III	
	M ± m	Cv,%	M ± m	Cv,%	M ± m	Cv,%
Зрівняльний (30днів)	329,9±6,8	5,3	331,3±4,5	4,9	337,1±5,4	5,7
Основний : 1	346,2±7,8	6,5	354,5±4,4	4,3	354,9±4,4	5,1
2*	365,9±8,1	7,1	375,5±5,5	3,6	372,4±6,0	4,9
3	389,4±10,4	7,0	397,8±5,9	4,6	387,5±6,8	5,1

Примітка. 2* - місяць пересадження ембріонів.

Як видно з таблиці, в кінці кожного місяця основного періоду телиці II дослідної групи мали більшу на 8,4, 11,6 та 8,4 кг живу масу порівняно з контрольними тваринами. При цьому коефіцієнт варіабельності цієї ознаки у дослідних групах тварин приблизно вдвічі менший ніж у контрольних, що поряд із незначною мінливістю живої маси, на нашу думку, є побічним свідченням позитивного впливу мінеральної підгодівлі на процеси росту.

Аналіз лімітів живої маси за місяцями основного періоду (ОП) дослідів, є переконливим аргументом для висновку, що мінеральна підгодівля була особливо корисною для тварин, які відставали в рості. Так, різниця між мінімальною живою масою телиць контрольної та II груп після зрівняльного періоду становила 8,1%, тобто була меншою запроваджених при відборі тварин для дослідів ±10%. У кінці основного періоду ця різниця досягла 14,1%.

Швидкість росту дослідних телиць, виражена через зміну середньодобового приросту живої маси, більш точно характеризує динаміку впливу екзогенних факторів на цей процес (табл. 35). За весь ОП телиці II групи мали середньодобовий приріст більший на 10,5% порівняно з контрольними тваринами. У перший місяць згодовування реципієнтам мікроелементів та дворазовій ін'єкції

вітамінів швидкість росту збільшилась порівняно з контролем на 48% (196,6 г), за другий - на 12% і за третій була меншою на 13,6%.

35. Середньодобовий приріст живої маси телиць-реципієнтів у місяці основного періоду дослід, $M \pm m$, г

Групи	За весь основний період	Місяці основного періоду		
		1-й	2-й	3-й
I (контроль)	646,7 ± 56,8	576,7 ± 84,5	635,5 ± 65,7	738,7 ± 185,3
II	722,8 ± 70,4	773,3 ± 106,7	709,7 ± 83,7	654,8 ± 93,3
III	547,8 ± 46,5	593,3 ± 56,2	564,5 ± 72,2	522,3 ± 91,4

Дослідні телиці III групи за основний період мали середньодобовий приріст живої маси менший на 15,5% порівняно з контрольними тваринами, за перший місяць він був майже однаковим, після другого знизився на 11,2% і в останній місяць, коли не вводили "Глютам" та вітаміни, зменшився на 29,3%.

Отже, згодовування мікроелементів та вітамінів реципієнтам до пересадження ембріонів стимулює у них процеси росту. Введення (8-разове) на фоні цієї добавки в період дворазової синхронізації статевої охоти біологічно активного препарату "Глютаму" зменшує інтенсивність приросту живої маси тварин.

На кінець зрівняльного періоду між телицями всіх груп вірогідної різниці за досліджуваними імунобіохімічними показниками крові не спостерігалось.

У телиць-реципієнтів II та III груп перед пересадженням ембріонів на 7-й день статевого циклу в крові було відповідно вірогідно менше на 28% та 21,3% ліпідів та нижча на 7,4%, 12,1% ($P < 0.01$) бактерицидна активність крові, ніж у контрольних тварин. Крім того, введення реципієнтам "Глютаму" (III група) спричинило зниження ($P < 0,05$) концентрації в крові глюкози на 21,3% та 18,8% порівняно з контрольними та дослідними тваринами II групи (табл. 36).

Зіставлення імунобіохімічних показників крові реципієнтів на 6-й день статевого циклу з аналогічними на кінець зрівняльного періоду виявило суттєві зміни в метаболічному профілі телиць у межах кожної групи. Так, у телиць контрольної групи вірогідно збільшився вміст білку, β -глобулінів і глюкози на

36. Рівень приживлюваності ембріонів та зміни імунобіохімічних показників крові у телиць-реципієнтів на початку ОП та перед пересадженням ембріонів (кінець ОП), М±m

Інгредієнт	Група, (n = 10)					
	І (контроль), приживлюваність- 25%		II, приживлюваність - 42,9%		III, приживлюваність - 83,3%	
	початок	кінець	початок	кінець	початок	кінець
Загальний білок, г/л	73,0±0,7 ^x	76,1±0,5 ^x	75,1±1,0	76,2±2,0	77,0±1,0	78,0±1,0
Альбуміни, %	46,2±5,4	48,0±2,6	51,9±0,9 ^{xx}	44,5±1,8 ^{xx}	50,6±1,6 ^{xx}	42,8±2,1 ^{xx}
α-глобуліни, %	16,3±4,0	10,4±1,8	10,5±1,0	13,9±1,3	11,4±1,5	11,6±1,5
β- глобуліни, %	20,3±2,4 ^{xx}	30,6±1,1 ^{xx}	18,8±0,9 ^x	29,9±1,5 ^x	17,4±0,9 ^x	32,4±1,1 ^x
γ- глобуліни, %	17,2±0,9 ^{xx}	11,2±0,8 ^{xx}	18,8±0,7 ^x	11,7±0,8 ^x	20,6±0,87 ^x	13,1±1,1 ^x
Глюкоза, ммоль/л	3,46±0,08 ^{xxx}	4,40±0,32 ^{xxx*}	3,29±0,14	4,26±0,27 ^{xxx*}	3,62±0,99	3,46±0,20 [*]
Сечовина, ммоль/ л	5,30±0,31 ^{xxx}	4,21±0,12 ^{xxx}	5,20±0,3 ^{xxx}	4,32±0,21 ^{xxx}	4,80±0,30	4,10±0,31
Загальні ліпіди, ммоль/л	3,10±0,11 ^{xx}	3,72±0,10 ^{**xx}	2,81±0,10	2,70±0,10 ^{***}	2,90±0,22	3,20±0,20 ^{**}
Каротин, мкмоль/л	4,86±0,37	4,30±0,75	3,55±0,37	3,93±0,37	4,30±0,19	3,93±0,37
БАК, %	-	63,7±0,18 ^{***}	-	68,7±2,4	-	71,5±1,0 ^{***}
НБАК ⁺ , %	-	65,8±0,18 ^{***}	-	69,2±1,7	-	73,7±1,7 ^{***}

Примітка: ⁺Напряга бактерицидної активності; різниця: в групі - ^xP<0,05; ^xP<0,01; ^{xxx}P<0,001; між групами - ^{*}P<0,05; ^{**}P<0,01; ^{***}P<0,001

4%, 10,3% і 21,3%, зменшився на 6,0% ($P < 0,01$) і 21,3% ($P < 0,001$) рівень концентрації γ -глобулінів та сечовини відповідно. У реципієнтів II групи вірогідно збільшився вміст в крові β -глобулінів і сечовини на 7,1% і 22,7% та зменшився на 11,1%, 17,3% і 7,4% рівень концентрації γ -глобулінів, сечовини і альбумінів відповідно. У телиць III групи вірогідно збільшився тільки рівень β -глобулінів на 15,0% та зменшився вміст альбумінів і γ -глобулінів на 7,5% і 8,2%.

Отже, після дворазової стимуляції статевої охоти простагландінами у піддослідних реципієнтів, на 6-й день статевого циклу в крові зменшується концентрація γ -глобулінів та збільшується вміст β -глобулінів. Збільшення концентрації β -глобулінів у крові побічно свідчить про зростання функціональної активності жовтого тіла. Відомо, що у β -глобуліновій фракції білків переважають ліпопротеїни, можливо, за рахунок ЛПВЩ, оскільки, саме вони транспортують холестерин для синтезу прогестерону [55], концентрація якого в цей день починає збільшуватися [117]. Зменшення у крові дослідних тварин II та III груп кількості альбумінів побічно свідчить про меншу концентрацію естрогенів - основних носіїв останніх [79].

Таким чином, можна вважати, що у дослідних тварин під впливом біологічно активних речовин у крові збільшується рівень прогестерону та знижується концентрація естрогенів, тобто створюються умови, які сприяють приживленню пересаджених ембріонів. При цьому у реципієнтів III групи умови створилися більш сприятливі за рахунок нормалізації процесів обміну вуглеводів та нижчої БАК. У той же час у контрольних тварин метаболічний фон погіршується внаслідок збільшення рівня загального білку та глюкози, що може свідчити про розвиток субклінічного кетозу, або внаслідок низького вмісту каротину та високого β -глобулінів і глюкози в репродуктивних органах може виникнути функціональний процес, що негативно впливає на приживлюваність ембріонів.

Аналіз результатів ректальних досліджень засвідчив, що після трансплантації найбільше ембріонів прижилось у реципієнтів III групи, менше II і

найменше у контрольних тварин. Так, рівень приживлюваності у II та III групах складав відповідно 42,9% та 83,3% проти 25% у контрольних тварин.

Отже, ці показники підтверджують прогноз, зроблений на підставі аналізу імунобіохімічного профілю крові. Згодовування мікроелементів та введення "Глютаму" в комплексі з вітамінізацією раціонів нормалізує у телиць обмінні процеси, створюючи в їх репродуктивних органах сприятливі умови для приживлення трансплантованих ембріонів.

Порівняння даних швидкості росту живої маси реципієнтів дослідних груп за рівнем приживлюваності пересаджених ембріонів підтверджує припущення щодо конкуренції за поживні речовини між фізіологічними процесами, які забезпечують ріст та відтворення. При цьому біологічно активний препарат "Глютам" через нейроендокринну регуляцію стимулює обмінні процеси в напрямку створення сприятливіших умов у репродуктивних органах для приживлення ембріонів.

Згідно з даними цього дослідження, у телиць-реципієнтів, яким згодовували мінеральні речовини та вводили біологічно активні препарати "Тетравіт" та "Глютам" спостерігається високий рівень приживлюваності пересаджених ембріонів. Виникло закономірне питання, чи повториться їх стимулююча дія в умовах відсутності підгодівлі мікроелементами?

3.2 Вплив препарату "Глютам" на біохімічний склад крові телиць-реципієнтів

Пересадження телицям-реципієнтам "задовільних" ембріонів може бути більш показовим свідченням стимулюючого впливу препарату на їх приживлення, оскільки вони мають знижену життєздатність в умовах, коли обмінні процеси в організмі тварин не забезпечують необхідного морфофункціонального стану репродуктивних органів для їх росту, розвитку та імплантації. Дослідження показали, що введення телицям-реципієнтам у період стимуляції статевої охоти простагландином біологічно активного препарату

"Глютам" дозволило досягти 40,9% приживлюваності "задовільних" ембріонів, тобто, суттєво більше (на 29,8%), ніж у контрольних тварин.

Ці результати показують, що в репродуктивних органах самиць під впливом "Глютаму" створюються сприятливі умови як для розвитку доімплантаційних зародків, так і для їх імплантації. Трикратне внутрішньовенне введення реципієнтам "Глютаму" не справляє побічного негативного впливу на організм самок. Так, між контрольною та дослідною групами не виникло суттєвої різниці за імунобіохімічними показниками крові відразу після другої ін'єкції і на 6-й день статевого циклу.

Отже, використання біологічно активного препарату "Глютам" для стимуляції простагландінами статевої охоти як на фоні вітамінно-мінеральної підгодівлі телиць-реципієнтів, так і лише вітамінної, підвищує приживлюваність ембріонів, пересаджених на 7-й день статевого циклу.

Для вивчення впливу "Глютаму" при трикратному внутрішньовенному введенні на процеси обміну вуглеводів, білків та ліпідів в організмі телиць був проведений дослід, у якому визначали динаміку в крові концентрації глюкози, холестерину, загального білку та активність ферментів переамінування: АсАТ і АлАТ. Дослід проводився в ВАТ "Племзавод Бортничі" в січні 1998 року. Після ректального дослідження були відібрані 15 телиць чорно-рябої породи віком 16-20 місяців, живою масою 330-415 кг, що мали на яєчнику жовте тіло. З них сформували групи: контрольну (n=7) та дослідну (n=8). Телицям дослідної групи вводився внутрішньовенно препарат "Глютам" в об'ємі 140 мл, естрофан та "Тетравіт" - внутрішньом'язово в дозах відповідно 2 та 10 мл. Тваринам контрольної групи замість "Глютаму" вводили фізіологічний розчин в об'ємі 140 мл і ті ж препарати, що й дослідним тваринам.

У телиць з яремної вени брали кров: у 1-й день двічі - перед введення "Глютаму" та через 30 хв після нього, а потім ін'єктували "Тетравіт"; на 2-й день - відбір крові перед введенням "Глютаму" та ін'єкцією естрофану; 3-й – відбір крові перед введенням "Глютаму" та через 30 хв після нього. Останній раз кров брали на 7-й день статевого циклу перед пересадженням ембріонів.

Порівняльний аналіз отриманих даних показав, що після введення "Глютаму" в крові дослідних телиць рівні загального білку та холестерину через 30 хв підвищилися на 6,5% ($P < 0,05$) і 15,1%, тоді як у контрольних тварин вони майже не змінились. Концентрація глюкози в крові реципієнтів обох груп знизилась ($P < 0,001$), а активність ферменту АсАТ вірогідно збільшилась (рис.5).

На другий день вміст білку в крові дослідних тварин був більшим ($P < 0,05$) порівняно з першим днем, у контрольних змінився в межах помилки. У крові контрольних тварин, як і у дослідних, було більше холестерину порівняно з першим днем відповідно на 16,3% ($P < 0,05$) та 10,2%. Рівень глюкози був меншим ($P < 0,05$). Активність АсАТ крові контрольних та дослідних телиць трохи знизилась, залишаючись більшою на 28,3% ($P < 0,01$) та 19,9%. Показник АлАТ вірогідно знизився у тварин обох груп порівняно з першим днем у півтора рази.

На третій день концентрація досліджуваних метаболітів у піддослідних тварин порівняно з першим днем була такою: різниця між вмістом загального білку та холестерину була в межах помилки, глюкози - вірогідно менша, активність АсАТ виявилась вірогідно більшою, а АлАТ - вірогідно меншою.

Через 30 хв після введення препаратів у контрольних тварин рівень загального білку не змінився, а у дослідних невірогідно зріс на 3,9%, вміст же холестерину не змінився в обох групах. Слід відмітити, що концентрація глюкози на третій день у крові контрольних тварин вірогідно знизилась порівняно з другим і змінилась після введення фізіологічного розчину. У дослідних тварин вона була майже однаковою, але після введення "Глютаму" також наблизилась до рівня контрольних. Після введення препаратів активність АсАТ у крові тварин обох груп вірогідно збільшилась, а АлАТ не змінилась.

Між телицями дослідної та контрольної груп на 7-й день статевого циклу не спостерігалось суттєвої різниці за рівнем концентрації досліджуваних метаболітів та активністю ферментів. У крові контрольних та дослідних тварин невірогідно збільшився вміст загального білку на 4,5%, 8,1%, холестерину на

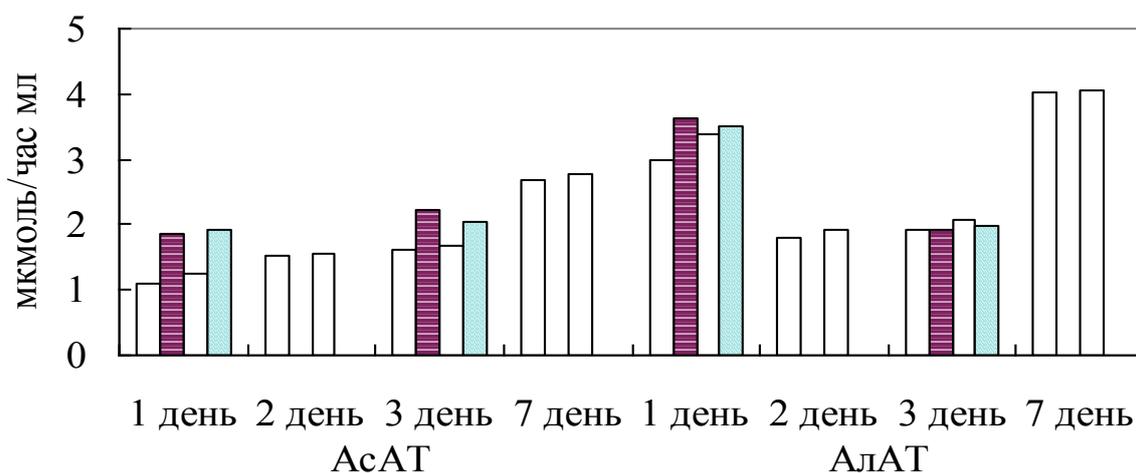
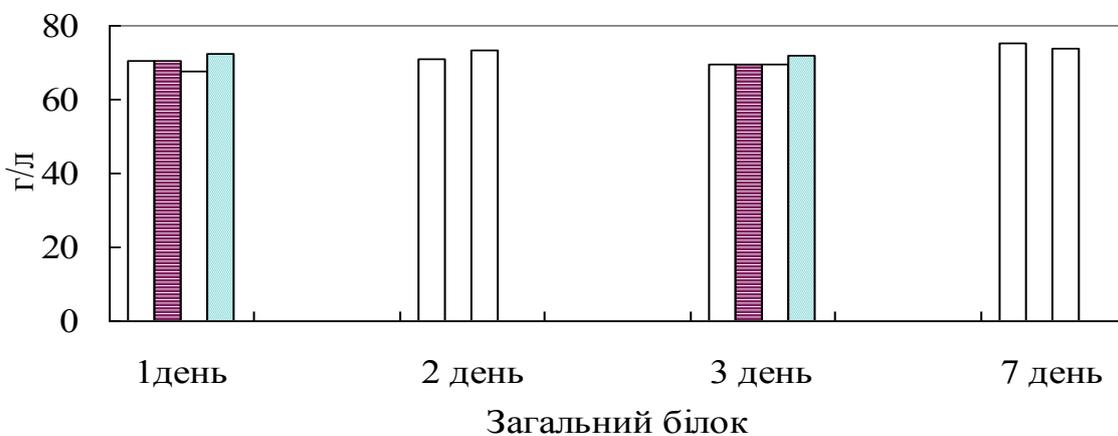
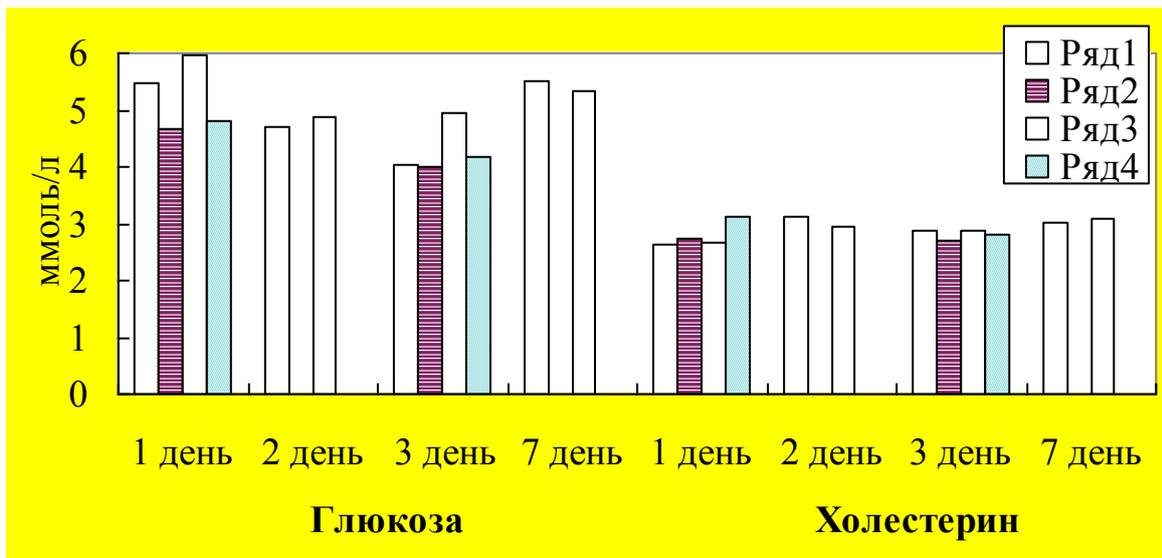


Рис 5. Динаміка концентрації та активності деяких метаболітів і ферментів крові телиць (1,2 ряд - перед та після введення фізіологічного розчину – контроль; 3,4 ряд перед та після введення “Глютаму”; 7 - день день статевого циклу)

13,2%, 14,5%, глюкози - залишився без змін, але вірогідно зросла активність ферментів порівняно з вихідним рівнем (першого дня).

Отже, після першого введення "Глютаму" в крові тварин збільшуються вміст білку ($P < 0,05$), холестерину та активність АсАТ ($P < 0,001$) і знижується ($P < 0,001$) концентрація глюкози. При чому, така динаміка названих інгредієнтів крові залишається незмінною і наступного дня. У контрольних тварин інтравенозне введення фізіологічного розчину також знижує рівень глюкози та підвищує активність ферментів.

Динаміка концентрації глюкози свідчить, що глюкоза у піддослідних тварин активно використовується всіма органами та тканинами впродовж доби. У дослідних тварин "Глютам" стимулює синтез холестерину як енергетичного, або ймовірно пластичного, субстрату уже через 30 хв. У контрольних телиць цей процес розвивається трохи пізніше, про що свідчить вірогідне збільшення концентрації в крові холестерину у них лише вранці другого дня. У контрольних реципієнтів після повторного введення фізіологічного розчину впродовж другої доби спостерігалось зниження концентрації глюкози, тоді як у дослідних, завдяки "Глютаму", вона стабілізувалася на попередньому рівні. Рівень холестерину в крові тварин обох груп знизився майже до початкового рівня першого дня і не змінився під впливом повторного введення препаратів, що свідчить, можливо, про початок (бо активність АсАТ в крові телиць обох груп вірогідно зросла) адаптації тварин до стресового фактора. Третє введення препаратів через 30 хв. не спричинило зміни вмісту глюкози в крові контрольних тварин, а у дослідних виникло вірогідне зниження до найменшого рівня її концентрації у порівнянні з іншими днями і майже однакового з контрольною групою. Така динаміка концентрації названого метаболіту в крові дослідних тварин є підставою для висновку, що "Глютам" у цей період стимулює через нейроендокринну регуляцію інтенсивне використання глюкози клітинами тканин та органів. Зазначені зміни в крові концентрації глюкози, загального білку та активності АсАТ спричинюють збільшення енергетичного

та пластичного потенціалу клітин органів та тканин, функціонально активних у цей період, а саме - системи відтворення тварин.

Глутамінова кислота та її метаболіти - важлива ланка гіпоталамо-гіпофізарної регуляції. У експериментах встановлена стимулююча дія глутамінової кислоти на активність системи "гіпофіз-коркова речовина надниркових залоз", тому припущення щодо її впливу на систему "гіпоталамус-гіпофіз-гонади" цілком правомірне. У досліді був визначений рівень гормонів цієї системи в замороженій в рідкому азоті плазмі крові телиць, отриманій в умовах ферми на 7-й день статевого циклу (табл. 37).

37. Рівень статевих гормонів у крові дослідних телиць на 7-й день статевого циклу

Гормон	Контроль (n=5)		Дослід (n=6)	
	М ± m	Cv,%	М ± m	Cv,%
Біологічно активний ЛГ, І.О./л	5,75±1,08	42,0	5,97±0,83	34,5
Прогестерон, нг/мл	1,68 ± 0,82	108,8	2,61 ± 0,81	90,7
17β-естрадіол, пг/мл	34,64 ± 1,39	8,9	40,85 ± 4,04	24,2

Примітка –ЛГ – лютеїнізуючий гормон

Було встановлено, що у дослідних телиць-реципієнтів у крові концентрація прогестерону та 17β-естрадіолу на 7-й день статевого циклу була більшою порівняно з контрольними тваринами відповідно на 35,6% та 15,2%. Невірогідність різниці між групами пов'язана зі значною варіабельністю отриманих даних. Аналіз же варіаційного ряду дав досить переконливі результати. Якщо з нього виключити крайні варіанти, рівень у крові прогестерону в дослідних телиць виявиться вдвічі більшим, ніж у контрольних (2,42±0,54 проти 1,17±0,24), хоча варіабельність залишається ще досить високою і складає відповідно в групах 45,3% та 36,4%. Оскільки в середньому максимум прогестерону у реципієнтів перед пересадженням ембріонів дорівнює 2,5-2,6 нг/мл, можна вважати, що "Глютам" нормалізує процеси

регуляції статевого циклу, а це сприяє успішному приживленню трансплантованих ембріонів.

У крові тварин не спостерігалось різниці за вмістом біологічно активного лютеїнізуючого гормону (ЛГ), що очевидно, пов'язане з різним часом піків його виділення аденогіпофізом для стимуляції жовтого тіла. Для перевірки цієї гіпотези були обчислені середні дані концентрації названих трьох гормонів у тварин, у яких візуально була зафіксована тічка. Отримані дані показали, що в крові дослідних тварин рівень концентрації ЛГ був більшим порівняно з контрольними на 15,7% .У той же час, у них в крові було також більше прогестерону та естрадіолу, ніж у контрольних відповідно на 25 та 19,8%.

Отже, простежена тенденція більшого вмісту в крові дослідних тварин ЛГ, прогестерону та 17β -естрадіолу є підставою для твердження, що трикратне введення внутрішньовенно препарату "Глютам" в об'ємі 140 мл спричинює в період стимуляції аналогами простагландину $F_{2\alpha}$ статевої охоти довготривалі морфофункціональні зміни в гіпоталамо-гіпофізарній системі, які сприяють інтенсивному виділенню гонадотропних гормонів, нормалізуючих функціонування яєчників тварин.

Значення білків та амінокислотного складу сироватки крові у функціонуванні відтворної системи самиці полягає у забезпеченні синтезу ендометрієм матки специфічних білків, необхідних для обмінних процесів у ембріонів на різних стадіях розвитку. Так, для бластоцисти серед білків переважаючою фракцією є утероглобін, який надходить до неї з гістотрофа матки впродовж преімплантаційної стадії і виконує функцію носія прогестерону [118].

Про інтенсивність процесів обміну білку судять за їх концентрацією в сироватці крові [119]. Вірогідне збільшення в крові концентрації загального білку в період введення "Глютаму" свідчить про інтенсифікацію у організмі тварин білоксинтезуючих процесів, які нормалізуються на 7-й день статевого циклу. Нами було також виявлено, що у цей день статевого циклу тільки реципієнти мали в крові вірогідно меншу концентрацію сечовини, яка є кінцевим продук-

том обміну азоту амінокислот, і її рівень може служити критерієм інтенсивності процесів як їх обміну, так і білків у цілому. Тобто, вивчення амінокислотного спектра та концентрації амінокислот у сироватці крові телиць, яким вводили "Глютам", передбачалось для повнішого визначення змін у процесах білкового обміну в організмі самиці і уточнення, які з них забезпечують кращі умови для приживлення ембріонів.

Аналіз наших даних свідчить, що у дослідних телиць у сироватці крові на 7-й день статевого циклу була більша концентрація вільних амінокислот на 17,3%, із них заміінних на 13,7% та незамінних на 22,7% ($P < 0,05$), вміст сечовини також збільшився на 11,3% (табл.38).

38. Концентрація амінокислот та сечовини в крові телиць, мг/100 мл

Метаболіти	Контроль (n=5)		Дослід (n=7)	
	M±m	C _v ,%	M±m	C _v ,%
Всього амінокислот	28,87±1,57	12,2	33,87±2,0	15,6
Із них: заміінні	17,34±0,95	12,2	19,72±1,23	16,5
незамінні	11,53±0,77	14,9	14,15±0,84*	15,7
Заміінні : незамінні	1 : 1,5	-	1 : 1,39	-
Сечовина	12,17±1,96	36,0	13,55±1,15	22,4

Примітка * $P < 0,05$

Порівняльний аналіз вмісту в сироватці телиць амінокислот показав, що загальна концентрація обумовлена збільшенням рівня кожної в межах від 0(таурин) до 28,3% (ізолейцин), проте вірогідно збільшилась лише концентрація двох заміінних (тирозин, 1-метилгістидин) та трьох незамінних (гістидин, триптофан, аргінін) амінокислот (табл.39).

Концентрація вільних ендогенних амінокислот у крові тварин може збільшуватися за умови розладу білковоутворювальної функції печінки, в першу чергу, за рахунок порушення дезамінування та трансамінування, що спостерігаються при тяжких формах вірусного гепатиту [120].

Враховуючи, що рівень концентрації глюкози та білку у крові піддослідних тварин був у межах фізіологічної норми, а також більший рівень сечовини у

39. Амінокислотний склад сироватки крові телиць, мг/100 мл

Амінокислота	Контроль (n=5)		Дослід (n=7)		+до конт-ролю, %
	M±m	C _v ,%	M±m	C _v ,%	
Аспарагінова	0,22±0,02	21,5	0,28±0,02	22,0	27,3
Треонін	0,52±0,04	17,8	0,56±0,05	23,5	7,7
Серин	2,62±0,17	14,0	3,01±0,15	13,3	14,9
Глутамінова	2,11±0,12	12,5	2,33±0,13	14,8	10,4
Пролін	4,36±0,35	17,9	4,84±0,48	26,2	11,0
Гліцин	2,79±0,14	11,0	3,23±0,17	13,9	15,8
Аланін	1,86±0,15	17,5	2,18±0,15	18,8	17,2
Цистин	0,37±0,04	26,0	0,43±0,008	5,4	16,2
Валін	2,0±0,18	19,9	2,46±0,13	14,3	23,0
Метіонін	0,40±0,03	17,5	0,44±0,03	16,2	10,0
Ізолейцин	1,06±0,12	26,6	1,36±0,07	13,9	28,3
Лейцин	1,34±0,11	17,8	1,64±1,08	17,4	22,4
Тирозин	0,79±0,05	14,3	1,01±0,07	16,9	21,8*
Фенілаланін	0,75±0,06	18,1	0,82±0,06	19,4	9,3
Гістидин	0,97±0,06	13,8	1,18±0,06	14,7	17,8*
3-метилгістидин	0,13±0,02	32,8	0,15±0,01	23,1	15,4
1-метилгістидин	0,18±0,008	9,8	0,21±0,01	12,2	14,3*
Орнітин	1,09±0,11	22,5	1,39±0,24	45,5	27,5
Лізін	1,30±0,11	18,9	1,62±0,13	21,9	24,6
Триптофан	0,52±0,07	30,0	0,72±0,05	20,4	27,8*
Аргінін	2,62±0,13	11,1	3,20±0,20	16,8	18,1*
Таурин	0,80±0,08	23,2	0,81±0,06	20,6	0

Примітка *P<0,05

сироватці дослідних самиць (свідчить про інтенсифікацію процесів дезамінування), безпідставно пов'язувати збільшення концентрації амінокислот

у крові дослідних телиць з патологічними порушеннями у печінці. Зміни концентрації амінокислот можливі при захворюваннях нирок, цукровому діабеті, але в цьому випадку вони носять різноспрямований характер - рівень одних збільшується, а інших зменшується [121]. При нефротичному синдромі різної етіології спостерігається збільшення коефіцієнта фенілаланін: тирозин [122], який у нашому випадку у дослідних телиць був меншим на 11% порівняно з контрольними тваринами (0,81 у досліді проти 0,95 у контролі). Оскільки всі піддослідні тварини утримувалися в одному приміщенні, були прив'язані в одному ряду та споживали однаково нормований раціон, збільшення рівня амінокислот у дослідних телиць не може бути спричинене різницею температурних чи кормових факторів.

Отже, можна вважати доведеним, що збільшення концентрації всіх виявлених амінокислот (за винятком таурину) є наслідком внутрішньовенного введення телицям під час стимуляції простагландинами статевої охоти біологічно активного препарату "Глютам".

Збільшення концентрації амінокислот у сироватці крові дослідних телиць, на нашу думку, обумовлене гормональною регуляцією їх транспортування. Встановлено, що важливим фактором, який забезпечує надходження амінокислот у клітину і включення їх у білок, є стероїдні гормони [123]. Естрогени через цАМФ регулюють надходження амінокислот до матки самиці. Рівень останніх у плазмі дослідних тварин був вищим, а це означає збільшення їх надходження із кишківника до кровоносного русла організму і ендометрію матки для синтезу білків, необхідних для росту та розвитку ембріона. У той же час вірогідне збільшення рівня незамінних амінокислот побічно підтверджує думку щодо стимулюючої дії "Глютаму" на процес синтезу стероїдних гормонів та, можливо, полягає в стимуляції "Глютамом" керованого метаболізмом їх транспортування [124]. Сутність стимуляції полягає в активації енергетичних біохімічних реакцій глюкозою, що як джерело енергії збільшує абсорбцію амінокислот [125].

Таким чином, введення внутрішньовенно телицям біологічно активного препарату "Глютам" у період стимуляції простагландинами статевої охоти спричинює на 7-й день статевого циклу збільшення в їх крові концентрації амінокислот (на 17,3%).

3.3 Зміни в репродуктивній системі телиць-реципієнтів після введення "Глютаму"

Зміни в обмінних процесах у організмі телиць внаслідок внутрішньовенного введення телицям-реципієнтам у день синхронізації статевої охоти препарату "Глютам" (обмін білків, вуглеводів, ліпідів, активізація ферментних систем, стимуляція виділення статевих гормонів) мають спричинити певні морфобіохімічні зрушення в органах репродуктивної системи, які створюють кращі передумови для приживлення пересаджених ембріонів. З метою вивчення цього питання було проведене відповідне дослідження в КСП ім. Т.Г.Шевченка на чорно-рябих телицях віком 20-24 місяці з живою масою 307-358 кг, а контрольний забій - на ковбасному заводі К.С.П. „Київський” Києво-Святошинського району Київської області. Дослідним телицям (n=8) вводили внутрішньовенно 4 рази препарат „Глютам” в об’ємі 140 мл, починаючи за два дні до ін’єкції екстрофану та у наступні два дні, включаючи день обробки, контрольним тваринам (n=8) у цій же дозі – фізіологічний розчин. Тварин забивали на 7-й день статевого циклу, почергово по одній голові з контрольної та дослідної груп.

Передзабійна жива маса дослідних телиць, маса нирок та селезінки були подібними контролю, а маса гіпофіза та щитовидної залози - більшою на 7% та 8,3%, ніж у контрольних тварин. Найбільша різниця спостерігалася за масою аденогіпофіза та правого наднирника. Так, аденогіпофіз та правий наднирник у телиць, що отримували "Глютам," порівняно з інтактними тваринами були більшими відповідно на 12,2% ($P<0.05$) та 28,9%.

Коефіцієнт варіабельності маси селезінки та щитовидної залози дослідних тварин був значно меншим, ніж у контрольних телиць, що може побічно свідчити про вплив препарату на ці органи.

Незначну різницю між групами за масою печінки, селезінки, нирок, щитовидної залози та гіпофіза можна пояснити з позиції аналогічності тварин за живою масою. Але значна різниця за масою аденогіпофіза ($P < 0,05$) та наднирника, імовірно, спричинена більшим функціональним навантаженням, стимульованим внутрішньовенним введенням до організму препарату "Глютам."

Морфологічною особливістю статевого апарату дослідних телиць можна вважати більшу на 6,8% порівняно з контролем масу матки.

У яєчнику спостерігались значні морфофункціональні зміни, пов'язані з ростом та розвитком фолікулів і жовтих тіл. У двох дослідних телиць були виявлені жовті тіла на лівому яєчнику і у такої ж кількості особин - на правому. У контрольних тварин всі жовті тіла знаходили на лівих яєчниках, що й обумовило різницю між групами за масою та об'ємом цього органа. Слід відмітити, що у контрольній групі телиця № 2009 мала жовте тіло з верхівкою до 0,5 см, але воно було з порожниною, заповненою рідиною, тому його масу при біометричних обчисленнях не враховували. Матеріали досліджень свідчать, що дослідні тварини мали більшу масу жовтого тіла, ніж контрольні, на 12,3%; на яєчниках дослідних телиць виявлено один фолікул діаметром від 10 до 18 мм, тоді як у трьох контрольних самиць фолікули мали діаметр від 5 до 7 мм та у одної - 21,9 мм. Якщо відкинути крайні варіанти, то виявиться, що дослідним телицям властивий вірогідно більший ($P < 0,05$) діаметр фолікула. Крім того, у них було в 4 ($P > 0,05$) або в 5 ($P < 0,05$) разів менше фолікулів діаметром 1-4 мм, що можна розглядати як свідчення нижчого рівня фолікулогенезу (табл. 40).

Для визначення впливу росту одного фолікула на інші, телиць з обох груп згрупували в два класи за розміром найбільшого фолікула і встановили, що у самиці, на яєчнику якої утворився фолікул діаметром від 5 до 10 мм, було в 3

ється. Слід відмітити тенденцію зростання вмісту глікогену у печінці та репродуктивних органах на 5-19% і зменшення його на 9% у яйцепроводах, що збігається з вірогідним збільшенням концентрації глюкози в крові (табл. 41).

Печінка один із тих органів, на який впливає (і в той же час від якого залежить) метаболізм всіх інших органів та систем. Вона є регулюючим, енерго-та субстратозберігаючим органом, і вивчення в ній змін метаболізму, спричинених зовнішніми чинниками, дасть можливість визначити вплив метаболітів на організм в цілому.

41. Вміст глікогену в органах залежно від класу показника концентрації глюкози в крові телиць, $M \pm m$

Об'єкт дослідження	Клас, ммоль/л (n = 4)		Різниця, %
	2,01-2,11	2,32-2,83	
Кров, ммоль/л	2,04±0,04*	2,53±0,12*	19,4
Печінка, г/кг	35,92±6,33	38,40±3,24	6,5
Ендометрій рога матки, г/кг:			
з сторони жовтого тіла	1,42±0,24	1,48±0,21	5,0
з протилежної сторони	1,01±0,18	1,25±0,31	19,1
Яєчник, г/кг	2,35±0,25	2,55±0,42	7,9
Яйцепровід, г/кг	2,81±0,3	2,56±0,18	8,9

Примітка : *P <0,01

Виявилось, що після внутрішньовенного введення "Глютаму" в період еструсу впродовж 7 днів статевого циклу у дослідних тварин відбувається вірогідно більше накопичення глікогену в печінці на 35% (P<0,01) та вільного холестерину на 38,1% (P>0,05) порівняно з контрольними телицями. Одночасно у 75% дослідних телиць у печінці було вірогідно менше на 27% глутамату та на 50% α -кетоглутарату. Висока варіабельність цих метаболітів підтверджує їх функціональну активність в обмінних процесах (табл.42).

Відомо, що глутамінова кислота включається в енергетичний обмін, в основному, шляхом переамінування її в кетоглутарову кислоту за допомогою аміно-

трансфераз, коферментом для яких слугує піридоксальфосфат [25]. Крім того, кетоглутарат є не тільки метаболітом, він слугує також і каталізатором синтезу глюкози та глікогену в печінці [124]. Тобто, зменшення концентрації кетоглутарату і глутарату та збільшення глікогену при незмінному вмісті лактату та пірувату слід розглядати як ознаку інтенсифікації вуглеводних біотинтетичних процесів, стимульованих біологічно активним препаратом "Глютам".

42. Показники обмінних процесів у печінці піддослідних телиць

Метаболіти	Контроль			Дослід		
	n	M±m	C _v ,%	n	M±m	C _v ,%
Глюкоза, г/кг	4	31,40±3,00*	19,3	4	48,58±1,21*	5,00
Глікоген, г/кг	4	29,20±2,83 **	19,3	4	45,17±1,13**	5,00
Лактат, мкмоль/г	4	4,01±0,31	15,3	4	4,29±0,23	10,6
Піруват, мкмоль/г	4	0,25±0,02	12,7	4	0,28±0,01	7,00
Глутамат, мкмоль/г	3	1,31±0,24*	29,8	3	0,74±0,11*	26,0
Кетоглутарат, мкмоль/г	3	0,24±0,02*	16,3	3	0,12±0,03*	41,9
Холестерин, мкг/г	3	743,7±183,2	42,7	3	1201,3±282,1	40,7

Примітка : *P<0,05; **P<0,001

Між групами вірогідної різниці за рівнем концентрації фосфоліпідів у печінці не спостерігається. У дослідних телиць було на 18,1% та 19,3% більше відповідно фосфатидилхоліну і сфінгомієліну та менше на 12,2% та 22,5% дифосфатидилгліцеролу і фосфатидилгліцеролу, ніж у контрольних тварин.

Для обох досліджуваних груп характерний більший вміст насичених жирних кислот, ніж ненасичених. У дослідних телиць вміст перших був вірогідно більшим на 16,5%, а у контрольних на 19,74% (P<0,05), ніж у других.

У складі печінки телиць основна частка належить 7 жирним кислотам: пальмітиновій (16:0), маргариновій (17:0), стеариновій (18:0), олеїновій (18:1), лінолевої (18:2), ейкозатрієновій (20:3), арахідоновій (20:4). Слід зазначити, що із названих 7 жирних кислот 5 (пальмітинова, стеаринова, олеїнова, лінолева, арахідонова) є основними і для мембран клітин кишкового епітелію [126].

У дослідних телиць у печінці було вірогідно більше пальмітинової, гіпогеевої та маргаринової кислот відповідно на 2,08%, 0,13% та 0,47%. Арахідонова кислота входить до складу простагландину, тому особливий інтерес представляє її рівень у печінці як резерву для синтезу цього гормону. У телиць, яким вводили "Глютам", у печінці її було менше на 1,77%, ніж у контрольних тварин, але оскільки різниця статистично невірогідна, можна розглядати це явище лише як побічне свідчення стимуляції синтезу простагландинів, а значить і інтенсифікації обмінних процесів в організмі.

Отже, інтравенозне введення біологічно активного препарату "Глютам" в організм телиць у період стимуляції статевої охоти інтенсифікує процеси обміну вуглеводів у напрямку глюконеогенезу, який сприяє накопиченню глікогену в печінці та викликає в ній зміни складу жирних кислот.

Періодичне введення в організм тварин "Глютаму" стимулювало у них процеси синтезу енергетичних речовин, про що свідчить накопичення в печінці резервів глікогену та деяких жирних кислот. Слід, однак, відмітити, що на момент забою енергетичні потреби організму за рахунок цих депо задовольнялися у дослідних і контрольних тварин на однаковому рівні, бо різниці за концентрацією пірувату у них не спостерігалось. Зниження вмісту глутарату та α -кетоглутарату також може свідчити про інтенсивнішу білоксинтезуючу функцію печінки та збільшення енергетичного забезпечення організму через використання сукциніл-КоА в циклі трикарбонових кислот.

Встановлено [127], що у телиць чорно-рябої породи на 6-7-й день статевого циклу в крові починає зростати концентрація прогестерону. Аналіз отриманих нами біохімічних даних показав, що у жовтому тілі яєчників дослідних телиць відбувається збільшення на 14 та 22% вмісту глутамату та кетоглутарату і зменшення лактату на 4,6%, пірувату на 17,8% та вільного холестерину на 16,4% порівняно з контрольними тваринами. Враховуючи також тенденцію зростання рівня глікогену (на 11,6%), можна вважати, що процеси глюконеогенезу в жовтому тілі інтенсифікуються за рахунок використання піровиноградної та молочної кислот (табл.43).

У жовтому тілі дослідних реципієнтів всіх класів фосфоліпідів було менше на 13-46%, ніж у контрольних тварин, за винятком дифосфатидилгліцеролу, якого було більше на 46,7%.

Дослідженнями встановлено тенденцію збільшення виділення жовтим тілом прогестерону при внутрішньовенному введенні "Глютаму," що збігається з даними [128] про важливе значення глютамінової кислоти і її метаболітів для гіпоталамо-гіпофізарної регуляції. Також відомо [79], що ЛГ може змінювати вміст фосфоліпідів у мембранах. Всі ці дані та тенденція зміни складу фосфоліпідів у жовтому тілі дослідних тварин є підставою для погляду, що "Глютам"

43. Метаболічний стан жовтого тіла яєчників піддослідних телиць

Метаболіт	Контроль			Дослід		
	n	M±m	C _v ,%	n	M±m	C _v ,%
Глюкоза, г/кг	4	1,15 ± 0,04	5,5	4	1,30 ± 0,06	9,4
Глікоген, г/кг	4	1,07 ± 0,04	5,9	4	1,21 ± 0,06	9,4
Лактат, мкмоль/г	4	5,33 ± 0,48	15,5	4	5,09 ± 0,33	13,2
Піруват, мкмоль/г	4	0,14 ± 0,02	27,2	4	0,12 ± 0,01	19,4
Глутамат, мкмоль/г	4	2,64 ± 0,50	33,1	4	3,07 ± 0,26	17,3
Кетоглутарат, мкмоль/г	4	0,20 ± 0,04	36,0	3	0,25 ± 0,02	11,5
Холестерин, мкг/г	3	1220,3±354,9	50,4	3	1019,7±136,1	23,1

забезпечує такі зміни в ферментних системах енергетично-пластичного синтезу ЛГ, які сприяють більшому його виділенню в кров під час формування жовтого тіла. У клітинах жовтого тіла ПГ, модифікуючи ефект ЛГ, збільшує рівень цАМФ, що стимулює синтез ПГ з арахідонової кислоти, джерелом якої є фосфоліпіди мембран, внаслідок чого підвищується синтез прогестерону. Отже, зменшення рівня фосфоліпідів у жовтому тілі в дослідних тварин також побічно свідчить про його більшу функціональну активність.

Крім того, привертає увагу велика концентрація в жовтому тілі яєчників телиць обох груп глютаму, якого тут значно більше, ніж у печінці та

ендометрії. Можливо, депонування глютамінової кислоти є резервом для стимуляції виділення гіпофізом додаткової кількості лютеїнізуючого гормону.

Вивчення складу жирних кислот показало, що у телиць обох груп у жовтому тілі було більше насичених, ніж ненасичених кислот. Ліпіди жовтого тіла яєчників у дослідних телиць обох груп склалися в основному з 10 жирних кислот, які за кількістю розташовані в такому порядку: пальмітинової (16:0) > стеаринової (18:0) > еландинової (18:1) > лінолевої (18:2) > арахідонової (20:4) > маргаринової (17:0) > генейкозанової (21:0) > докозапентоєнової (22:5) > докозатетраєнової (22:4) > екозатрієнової (20:0).

У дослідних тварин у жовтому тілі яєчників було вірогідно менше меристоолеїнової (14:1) на 0,18%, пальмітоолеїнової (16:1ω9) на 0,55%, хирогонової (16:2ω4) на 0,32%, гептадеценової (17:1) на 0,23%, еландинової (18:1) на 5,02%, октадекатетраєнової (18:4) на 0,19% та ейкозапентоєнової (20:5) на 0,21%. У дослідних телиць у жовтому тілі було невірогідно більше на 0,72% арахідонової кислоти, що є продуктом перетворення в організмі тварин лінолевої та ліноленової кислот, вміст яких у жовтому тілі дослідних телиць був меншим на 1,59% та 0,03% порівняно з контрольними. Отже, зменшення концентрації цих кислот та зростання вмісту арахідонової є побічним свідчення інтенсифікації процесу синтезу простагландинів і підтверджує раніше висловлену гіпотезу про вплив "Глютаму" на виділення гіпофізом ЛГ.

Таким чином, інтравенозне введення "Глютаму" в період стимуляції статевої охоти спричинює у жовтому тілі яєчників телиць інтенсифікацію процесу глюконеогенезу, який відбувається в основному за рахунок використання лактату та пірувату, змінює в сторону зменшення кількість фосфоліпідів і семи жирних кислот. Жовте тіло яєчників телиць відрізняється за складом жирних кислот від аналогічного показника ендометрія рогів матки та печінки.

Відомо, що у самиць великої рогатої худоби приживлення ембріонів відбувається в переважній більшості у тому розі матки, з боку якого в яєчнику виявили жовте тіло. Через те метаболічний стан матки вивчали, аналізуючи проби ендометрія її рогів у контрольних і в дослідній групах, взявши до уваги

як критерій наявності чи відсутності у відповідному яєчнику жовтого тіла. Таким чином, порівняння одержаних даних вели за показниками двох контрольних груп та двох дослідних.

У дослідних тварин в ендометрії рога матки із сторони жовтого тіла було вірогідно більше на 20,2%, 20,6% і 22,4% глікогену, глюкози і холестерину та менше на 17,3%, 17,5% лактату і пірувату, ніж у контрольних тварин. У 75% дослідних тварин в ендометрії цього рога матки також виявилось менше на 18,7% і 20% глутамату і кетоглутарату. Така зміна концентрації названих метаболітів свідчить про інтенсифікацію процесу глюконеогенезу в ендометрії рога матки із сторони жовтого тіла. У ендометрії протилежних рогів матки спостерігається таке ж співвідношення концентрації названих метаболітів, за винятком лактату. Слід відмітити, що стимуляція глюконеогенезу відбувається за умови високої концентрації АТФ і низької АМФ [124], що побічно свідчить про більшу енергозабезпеченість матки дослідних тварин саме на 7-й день статевого циклу.

Аналіз показників у кожній групі показав, що у контрольних тварин в ендометрії протилежного рога матки було вірогідно більше пірувату, глутамату та кетоглутарату порівняно з рогом матки із сторони яєчника з жовтим тілом. У дослідних тварин спостерігалась така ж тенденція, що можна розглядати як побічне свідчення про неоднаковий вплив "Глутаму" на обмінні процеси в обох рогах матки. Виявлені різниця між показниками двох рогів матки є підставою припущення, що для успішного приживлення ембріона в ендометрії має бути низька концентрація досліджених метаболітів, і це зменшення з одночасним збільшенням вмісту глікогену та глюкози в ендометрії створює кращі умови для перебігу цього важливого процесу. У піддослідних телиць на 7-й день еструсу в ендометрії рога матки із сторони жовтого тіла містилось більше на 20,5% та на 27,7% холестерину, ніж у протилежному рогові. При чому в дослідних телиць у обох рогах його було більше на 22,4% та 29,4%, ніж у контрольних (табл. 44).

Аналіз фосфоліпідного складу показав, що у дослідних телиць в ендометрії рога матки із сторони жовтого тіла було більше фосфатидилхоліну на 15,7%, сфінгомієліну на 33,4%, фосфатидилінозитулу на 67,3%, дифосфатидилгліцеролу на 12,5% і фосфатидилгліцеролу на 25% порівняно з контрольними тваринами. У протилежному рогові матки в ендометрії було більше на 46,6% та 60,3% фосфатидилетаноламіну та фосфатидилінозитулу і менше на 33,4% та 18,7% дифосфатидилгліцеролу та фосфатидилгліцеролу, ніж у контрольних самиць.

Такі зміни вмісту фосфоліпідів в ендометрії рога матки із сторони яєчника з жовтим тілом у дослідних тварин, найімовірніше, пов'язані з конформаційними змінами та рівнем активності мембранних ферментів [129, 130], виникаючих внаслідок більшої концентрації субстрату, і які свідчать про індукцію обмінних процесів під впливом більшої концентрації прогестерону, що узгоджується із зміною кількості фосфоліпідів у жовтому тілі та станом його енерговуглеводного метаболізму. Можливо, тенденція зростання вмісту фосфоліпідів у цьому рогові матки дослідних тварин також пов'язана із збільшенням виходу глюкози із клітин ендометрія в ембріотроф, що спричинює створення більшої кількості небішарових структур мембран, які визначають особливу їх роль у транспортних процесах [131]. Слід враховувати, що холестерин також впливає на транспортування через мембрану, зокрема, глюкози [132].

Вивчення складу ліпідів ендометрію рогів матки не виявило суттєвої різниці за вмістом жирних кислот між піддослідними групами, за винятком вірогідно більшої кількості гептадеценової кислоти (17:1) на 0,14% в ендометрії рога матки з сторони яєчника з жовтим тілом порівняно з контролем. Слід відмітити наявність слідів тридецилової кислоти (13:0) в ендометрії аналогічного рога матки у контрольних тварин. У дослідних тварин спостерігається тенденція меншого на 1,09% та 1,13% вмісту арахідонової і докозопентоєнової кислот у ендометрії рога матки з протилежної від яєчника з жовтим тілом сторони порівняно з аналогічним рогом контрольних телиць.

У телиць обох груп у ендометрії (як і у яєчнику) було більше насичених, ніж ненасичених кислот. Ліпіди в дослідних телиць обох груп включали, в основному, 8 жирних кислот, які за кількістю розташовані в такому порядку:

44. Метаболічний стан ембріотрофа та ендометрія рогів матки дослідних телиць

Інгредієнт	Ріг матки із сторони							
	жовтого тіла				протилежної			
	контроль		дослід		контроль		дослід	
	n	M±m	n	M±m	n	M±m	n	M±m
Глюкоза, г/кг	4	1,57±0,09 ^x *	4	1,97±0,09*	4	0,95±0,08 ^{xx}	4	1,49±0,33
Глікоген, г/кг	4	1,46±0,09 ^x *	4	1,83±0,08*	4	0,89±0,07 ^x	4	1,38±0,31
Лактат, мкмоль/г	4	5,49±0,61	4	4,74±0,41	4	4,57±0,40	4	4,91±0,36
Піруват, мкмоль/г	4	0,11±0,018	3	0,07±0,0184	4	0,18±0,015 ^x *	4	0,10±0,015
Глутамат, мкмоль/г	4	1,04±0,28	3	0,84±0,12	3	1,97±0,022 ^x	3	1,62±0,28
Кетоглутарат, мкмоль/г	3	0,24±0,068	3	0,19±0,062	3	0,54±0,044 ^x	3	0,36±0,06
Холестерин, мкг/г	3	570,7±210,0	3	735,3±190,9	3	412,7±133,0	3	584,3±174,0

Примітка : ^x P < 0,05 ^{xx} P < 0,01 - різниця між показником в групі; *P < 0,05 - різниця між групами

стеаринової (18:0) > еландинової (20:4) > лінолевої (18:2) > маргаринової (17:0) > бегенової (22:0) > докозопентоєнової (22:5). Ендометрій протилежного рога матки у складі ліпідів не мав тридецилової 13:0), меристоолеїнової (14:1), гіпогеєвої (16:1ω7) та октадекатетраєнової (18:4) кислот, що виявлені в рогові матки із сторони яєчника з жовтим тілом

Отже, аналіз отриманих нами даних та джерел літератури свідчить, що введення в кров біологічно активного препарату "Глютам" у дні статевого збудження внаслідок збільшення ензимної активності в клітинах стимулює енерго-вуглеводні обмінні процеси в ендометрії, що в свою чергу індукує зміни в мембранах, які поліпшують транспортування метаболітів у ембріотроф.

4 КОРЕЛЯЦІНІ ЗВ'ЯЗКИ МІЖ ЧИННИКАМИ, ЯКІ ЗУМОВЛЮЮТЬ ЕФЕКТИВНІСТЬ МЕТОДУ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ ЕМБРІОНІВ

Теоретичною основою сучасної концепції про цілісність організму тварин і обмеженої стійкості внутрішніх зв'язків між різними його параметрами, а також між функцією і відповідною морфологічною характеристикою, слугують закони кореляції [133] та відносної мінливості [134].

Установлено, що спадкова зміна ознаки через кореляційні зв'язки впливає на інші органи [135], а по мірі диференціації організму тварин призводить до ускладнення системи кореляцій, об'єднуючих його в єдине ціле. У організмі розрізняють геномні, морфологічні та ергоністичні кореляції [136]. Всі ці кореляції мають більш-менш виражений регуляторний характер, який визначає напрямок формоутворювального процесу в організмі, що розвивається [137].

Регуляція відтворної функції відбувається на основі генетично контрольованих систем - нервової і гормональної, причому вплив ендокринної системи на статеву поведінку проявляється лише після досягнення певного порога чутливості нервової системи [138]. Тому у селекції за тестами поведінки спостерігається широкий спектр корелятивно зв'язаних зрушень у відтворній функції [139].

Інтенсивний штучний відбір за швидкістю росту може спричинити зміни в ендокринній системі, незважаючи на її високу детермінованість [140]. Відповідно до функціонування ендокринної системи варіює норма реакції обмінних процесів організму на екзогенні фактори, що в свою чергу може вплинути на розвиток та приживлюваність ембріонів. Приживлюваність ембріонів як показник відтворної функції характеризується низьким успадкуванням (в середньому 10%), що свідчить про значний вплив паратипових факторів на більшу частку мінливості цього показника, і про неадитивну дію генів, оскільки, як вважають [141], все ж він може бути поліпшений як аутбридингом, так і схрещуванням.

Враховуючи, що під час створення української чорно-рябої породи застосовувалось відтворювальне схрещування корів місцевої чорно-рябої з бугаями голштинської породи, можна було чекати генетичного поліпшення відтворної функції, що і підтвердила практика виведення тварин нового типу. Так, у помісей спостерігається краща запліднюваність корів після першого осіменіння. На одну тільність у них припадало в середньому 1,71 осіменіння, проти 1,96 у чорно-рябих корів. Але сервіс-період у помісних тварин вирізняється в умовах різних господарств великою мінливістю, що підтверджує значний вплив на цей показник умов зовнішнього середовища [142].

Фактори зовнішнього середовища через обмінні процеси в організмі самиць впливають також і на інтенсивність їх росту, про зв'язок якої з приживлюваністю ембріонів свідчить те, що при середньодобовому прирості живої маси телиць у віці 16-18 місяців понад 850-890 г індекс осіменіння був на рівні 2,61 проти 1,78 у тварин, що мали його в цей період у межах 600-800 г [143].

Очевидно, для згаданих двох фізіологічних процесів характерні свої метаболічні шляхи, які регулюються схожими молекулярними механізмами через вплив нейроендокринної системи на генетичні і цитогенетичні процеси в організмі тварини, що росте. На цьому ґрунті можливе виникнення між швидкістю росту і приживленням ембріонів корелятивних зв'язків, від ступеня і спрямованості яких буде залежати ефективність однієї із ознак. Отже,

визначення кореляційних зв'язків між імунобіохімічними показниками крові у тільних та нетільних телиць-реципієнтів нової української чорно-рябої породи актуальне з огляду розкриття морфобіохімічних особливостей, які, можна думати, виникли в процесі її селекції, виявити можливості підвищення ефективності біотехнологічних методів відтворення через екзогенні фактори коригування обмінних процесів.

Вибір імунобіохімічних показників для кореляційного аналізу в нашому досліді обумовлений їх значенням в імунній системі та регуляції білкових, вуглеводних, жирових і вітамінних обмінних процесів в організмі самиці, рівень яких забезпечує реалізацію функції росту та відтворення .

Коефіцієнти кореляції між швидкістю росту та досліджуваними імунобіохімічними показниками представлені в таблиці 45. На підставі цих даних можна стверджувати, що ступінь та спрямованість кореляційних зв'язків визначається фізіологічним станом реципієнтів та періодом, за який обчислена швидкість росту живої маси самиць. Так, у реципієнтів, що стали тільними, між приростом за 30 днів до пересадження ембріонів та показниками білкового обміну отримані низькі невірогідні коефіцієнти кореляції, тоді як у тих, що лишилися нетільними, виявлена вірогідно висока кореляційна залежність між приростом і вмістом у сироватці крові альбуміну, глобуліну та α -глобуліну. Такий же зв'язок між цими показниками при незначній зміні його ступеня спостерігається за 60 та 90-денний період росту.

Імунобіохімічні показники фактично характеризують метаболічний профіль на 7-й день статевого циклу, тобто є незмінною функцією, на відміну від середньодобового приросту. Звідси виходить, що після стимуляції статевої охоти у тільних реципієнтів обмінні процеси в організмі були спрямовані переважно на підготовку статевого апарату до вагітності, про що й свідчать низькі коефіцієнти кореляції між показниками, які відображають метаболізм та

45. Коефіцієнти кореляції між імунобіохімічними показниками крові та середньодобовим приростом живої маси телиць-реципієнтів у різні періоди до і після пересадження ембріонів

Об'єкт визначення	Тільні					Нетільні				
	Періоди, днів									
	до пересадження			після пересадження		до пересадження			після пересадження	
	30	60	90	30	120	30	60	90	30	120
Загальний білок, %	-0,04	0,15	0,01	0,04	-0,12	0,32	-0,09	-0,20	-0,38	-0,44
Альбуміни, %	0,08	0,21	0,10	0,10	0,37	0,48*	0,43	0,49*	-0,43	-0,07
Глобуліни, %	-0,08	-0,21	-0,10	-0,10	-0,37	-0,48*	-0,46	-0,49*	0,34	-0,09
α-глобуліни, %	-0,14	0,08	0,14	-0,04	0,08	-0,50*	-0,28	-0,33	0,22	-0,11
β-глобуліни, %	0,02	-0,28	-0,15	-0,21	-0,004	-0,18	-0,40	-0,36	0,11	-0,14
γ-глобуліни, %	0,14	-0,10	0,09	0,16	0,25	-0,02	0,003	-0,02	0,43	0,33
Загальні ліпіди, ммоль/л	-0,22	0,05	-0,30	-0,42	0,05	-0,06	-0,61**	-0,22	0,14	-0,02
Сечовина, ммоль/л	-0,40	0,04	0,17	-0,11	0,54**	-0,14	0,01	0,15	-0,16	-0,03
Глюкоза, ммоль/л	-0,28	0,37	0,37	-0,06	0,51**	0,21	-0,24	-0,24	-0,34	-0,44
Каротин, мкмоль/л	-0,22	-0,25	-0,49*	0,09	0,69**	0,40	0,06	0,46	-0,02	0,36
БАК, %	-0,43	-0,35	0,15	0,30	0,26	0,01	0,21	0,39	0,08	0,38

Примітка : *P<0,05; **P<0,01

швидкість росту живої маси. У період приживлення ембріонів у тільних тварин спостерігалась негативна вірогідна середнього ступеня кореляція між швидкістю росту та концентрацією загальних ліпідів, у нетільних реципієнтів залежність була позитивна та низька.

Суттєво вирізняються в групах кореляційні зв'язки між швидкістю росту за 120-дений період росту та концентрацією досліджуваних інгредієнтів. У тільних реципієнтів концентрація альбумінів, глобулінів і їх співвідношення (А/Г) корелювали з швидкістю росту в середньому ступені, а з рівнем сечовини, глюкози, каротину - вірогідно високому, проти низького та середнього ($P < 0,05$) у нетільних тварин. При цьому спрямованість зв'язку свідчить, що шанс на приживлення ембріонів зростає у тих тварин, у яких швидкість росту живої маси була вищою на фоні меншого вмісту глюкози, сечовини і більшому каротину (табл.45).

Отже, між кореляційними зв'язками швидкості росту та показниками метаболічного профілю крові на 7-й день статевого циклу у тільних та нетільних телиць-реципієнтів існує різниця, яка в значній мірі залежить від періоду, за який визначений середньодобовий приріст, специфічності спектра метаболітів плазми крові і зумовлюють приживлення або неприживлення пересаджених ембріонів.

Визначення кореляції між концентрацією глюкози, сечовини, каротину та іншими показниками метаболічного профілю може мати значення у зв'язку з рівнем приживлюваності ембріонів у реципієнтів та можливістю корекції обмінних процесів з метою його підвищення. Було встановлено, що у тільних реципієнтів вміст цих інгредієнтів має вірогідно високий рівень зв'язку тільки з БАК. У нетільних самиць такого рівня кореляція спостерігається лише між глюкозою та БАК. Важливо відмітити, що у тільних реципієнтів між рівнем глюкози та каротину також виявлена вірогідно ($P < 0,05$) висока негативна кореляція ($r = -0,633$), тоді як у нетільних тварин вона низька ($r = -0,186$, $P > 0,05$). Неважко помітити, що збільшення в крові вмісту каротину за зниження концентрації глюкози супроводжується успішним приживленням ембріонів.

Суттєвим доказом переорієнтації обмінних процесів в організмі самиць у період підготовки до вагітності є кореляційні зв'язки БАК з деякими досліджуваними біохімічними показниками. Так, у невизначений день статевого циклу (початок досліджу) БАК реципієнтів, що залишилися нетільними, вірогідно корелює з концентрацією альбумінів, глобулінів, вмістом γ -глобуліну, загальних ліпідів, сечовини, каротину, тоді як у день пересадження (7-й день еструсу) змінились як ступінь, так і спрямованість зв'язків між ними (за винятком γ -глобулінів). У тварин, що стали тільними, навпаки, БАК на 7-й день статевого циклу вірогідно корелює з вмістом загального білку, глобулінів, альбумінів, сечовини (табл.46).

46. Коефіцієнти кореляції між показником БАК та вмістом інших метаболітів у тільних та нетільних реципієнтів у різні дні статевого циклу

Метаболіт	Стали тільними n = 20		Залишились нетільними n = 17	
	День статевого циклу			
	невизначений	7-й	невизначений	7-й
Загальний білок, %	-	-0,690**	-	0,395
Альбуміни, %	-0,374	0,479*	-0,515*	0,223
Глобуліни, %	0,477*	-0,490*	0,462*	-0,176
α -глобуліни, %	0,247	0,121	0,412	-0,177
β -глобуліни, %	0,738**	-0,319	0,446	0,073
γ -глобуліни, %	0,039	-0,219	-0,657**	-0,330
Загальні ліпіди, ммоль/л	0,476*	-0,150	0,574*	0,087
Сечовина, ммоль/л	-0,375	-0,435*	-0,491*	0,126
Глюкоза, ммоль/л	-	-0,576**	-	-0,75**
Каротин, мкмоль/л	0,406	0,517**	0,503*	0,597**

Примітка : *P<0,05; **P<0,01

Отже, у тільних та нетільних реципієнтів корелятивні зв'язки між швидкістю росту живої маси у різні фізіологічні періоди та показниками, що відображають метаболічний профіль крові на 7-й день статевого циклу, неоднакові. У тільних

реципієнтів між середньодобовим приростом за період 120 днів (90 днів до пересадження ембріонів і 30 днів після) та концентрацією сечовини, глюкози і каротину спостерігається вірогідна ($P < 0,01$) кореляція в ступені -0,54, -0,51 та +0,69 відповідно. Можна вважати також доказаною залежність приживлюваності ембріонів у телиць-реципієнтів від спрямованості та ступеня в їх крові корелятивного зв'язку між БАК та глюкози, сечовини, каротину, загального білку, глобулінів та альбумінів, що дає можливість використати цей показник у практиці трансплантації ембріонів, а саме як додатковий критерій відбору телиць до групи реципієнтів.

Поряд з нервовою системою, регулюючим чинником функціонування яєчників є гонадотропні гормони ФСГ та ЛГ. При аналізі коефіцієнтів кореляції ми брали до уваги, що до 16-17-го дня статевого циклу виділення обох гормонів відбувається побіжно.

У контрольних тварин коефіцієнт кореляції між концентрацією ЛГ та прогестерону має вірогідно високий негативний ступінь, що дає підставу трактувати це як завершення стимулюючої дії ЛГ на формування жовтого тіла та початку блокування ним значного зростання рівня гонадотропних гормонів. Це підтверджується також негативними високими та середніми коефіцієнтами кореляції ЛГ з концентрацією глюкози, холестерину та активністю АсАТ.

Менший викид ЛГ призводить до зменшення інтенсивності росту фолікулів і концентрації естрогенів у крові тварин, про що і свідчить високий негативний коефіцієнт кореляції між рівнями ЛГ та 17β -естрадіолу, коли менший вміст останнього відповідає більшому рівню гонадотропного гормону. Про зменшення рівня в крові цього естрогену свідчать також негативний низький коефіцієнт кореляції з показником вмісту холестерину та високий з активністю АсАТ. Оскільки цей метаболіт процесів обміну ліпідів бере участь в синтезі естрогенів і його рівень, як і активність АсАТ, збільшуються, то більшому вмісту цих показників відповідає менша концентрація 17β -естрадіолу. Вірогідно високі позитивні коефіцієнти між рівнем прогестерону та глюкози і холестерину дають підставу вважати, що названий гормон стимулює процеси

синтезу досліджуваних метаболітів, тоді як їх використання в енергетичних та пластичних процесах в органах і тканинах організму, зокрема у репродуктивних, знижена. У контрольних тварин прогестерон також стимулював активність трансаміназ та в незначній мірі синтез білку ($r = 0,31$) (рис. 6).

У дослідних тварин спостерігаються інші корелятивні зв'язки. Так, коефіцієнт кореляції між ЛГ та прогестероном має середній позитивний ступінь, а з естрадіолом - позитивно низький. Між прогестероном і естрадіолом встановлено вірогідно високий позитивний кореляційний зв'язок. Тобто, зростання концентрації цих гормонів відбувається одночасно, як і виділення гіпофізом гонадотропних гормонів. При чому, прогестерон і естроген у парі стимулюють інтенсивне використання репродуктивними органами глюкози та холестерину, що підтверджують середні негативного ступеня корелятивні зв'язки між ними, та індукують активність АсАТ та АлАТ у крові тварин. Про останнє свідчать вірогідно високі позитивні коефіцієнти кореляції. Низький негативний коефіцієнт кореляції між естрадіолом та холестерином сигналізує про настання перехідного моменту від зростання до зниження концентрації гормону в крові тварин. У той же час концентрація ЛГ позитивно корелює з вмістом глюкози, негативно з білком ($r = -0,61$) та холестерином.

Отже, у дослідних тварин на 7-й день статевого циклу присутній у крові ЛГ стимулював морфофункціональну активність жовтого тіла, прогестерон та естрадіол регулюють рівень концентрації досліджуваних метаболітів, тоді як у контрольних такі процеси залежності не спостерігаються.

Таким чином, отримані коефіцієнти кореляції підтверджують, що препарат "Глютам" стимулює функціональну активність нейрогуморальної регуляції обмінних процесів телиць у цілому організмі і в їх репродуктивній системі зокрема.

Отримання більшої кількості придатних ембріонів при суперовуляції у донорів у значному ступені залежить від обмінних процесів в їх організмі, які опосередковано через статеві органи забезпечують енергетичним та пластичним матеріалом ріст і розвиток ембріонів та яйцеклітин.

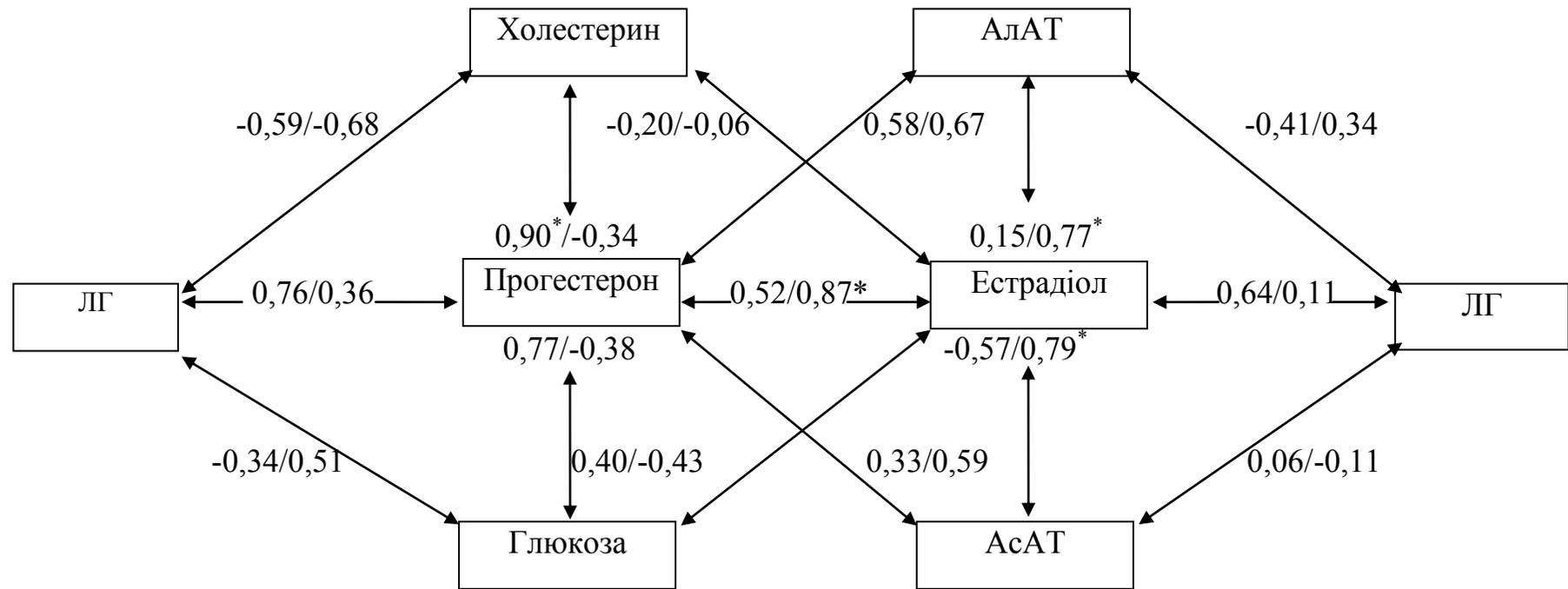


Рис. 6. Схема кореляційних зв'язків між концентрацією статевих гормонів та рівнем деяких біохімічних показників крові на 7-й день статевого циклу в телиць-реципієнтів (коефіцієнти кореляції: чисельник - контроль (n=5); знаменник - дослід (n=7); *P<0,05).

Одна з причин ранньої ембріональної смертності зумовлена надмірною тривалістю овуляції [144].

Зменшення ембріональної смертності можливе за рахунок використання гуморальної стимуляції прискорення розвитку ембріонів із сповільненим ростом, для чого необхідно встановити рівень їх метаболічних процесів у різні дні статевого циклу та фактори, які на нього впливають. Так, встановлено, що життєздатні ембріони можливо отримати тільки від тих донорів, у яких вимивне середовище з матки мало рН 7,16-7,48. При цьому спостерігається тісний кореляційний зв'язок між рН і часткою життєздатних ембріонів ($r=0,881$) [145].

Пік інтенсивності обміну глюкози спостерігали під час перебігу стадій компактної морули та бластоцисти [146]. Тому вивчення кореляційних зв'язків у донорів між показниками суперовуляції та імунобіохімічними - актуальне для прийняття рішень при відборі корів у донори та розробці способів збільшення її ефективності за рахунок виходу придатних ембріонів.

Як видно з представлених у таблиці 47 даних, вихід придатних ембріонів вірогідно позитивно у високому ступені корелював ($r=+0,534$, $P<0,01$) з концентрацією β -глобулінів та позитивно в середньому ($P<0,05$) з вмістом сечовини.

Рівень суперовуляції корелює ($P<0,05$) негативно в середньому ступені з концентрацією в крові донорів каротину. Менший вміст каротину пов'язаний з підвищенням синтезу вітаміну А, необхідного для росту жовтих тіл, чим і пояснюється негативна кореляція між концентрацією каротину і кількістю останніх. У день статевої охоти у донорів ступінь кореляційних зв'язків між показниками змінився. Вихід придатних ембріонів та вміст β -глобулінів набули невірогідного, позитивного, середнього ступеня кореляційного зв'язку, а з концентрацією глюкози вірогідного і досить значного ($r=+0,484$, $P<0,05$). Загальна ж кількість ембріонів корелювала з вмістом метаболітів вірогідно в середньому ступені, а кількість жовтих тіл - негативно в низькому ступені з вмістом каротину. Крім того, вміст глюкози вірогідно по-

47. Коефіцієнти кореляції між показниками суперовуляції та імуно-біохімічними метаболітами крові на 10-й день статевого циклу (n = 25).

Метаболіт	Жовтих тіл, шт	Ембріонів, шт.		
		всього	придатних	непридатних
Загальний білок, г/л	-0,093	-0,086	0,007	-0,225
Альбуміни, %	-0,027	-0,034	-0,094	0,087
α-глобуліни, %	-0,084	0,012	-0,073	0,16
β-глобуліни, %	0,269	0,499*	0,534**	0,259
γ-глобуліни, %	-0,141	-0,266	-0,203	-0,285
A/G	0,017	-0,047	-0,102	0,068
Ліпіди, ммоль/л	-0,09	0,01	0,06	-0,09
Сечовина, ммоль/л	0,29	0,41*	0,40*	0,32
Глюкоза, ммоль/л	-0,118	0,186	0,22	0,059
Каротин, мкмоль/л	-0,40*	-0,163	-0,16	-0,13
БАК, %	0,10	0,02	-0,04	-0,13
НБА, %	0,22	0,11	0,07	0,16

Примітка: *P<0,05; **P<0,01

зитивно корелював з кількістю жовтих тіл, а сечовини - з виходом непридатних ембріонів позитивно у середньому ступені (табл.48).

Отже, кореляційний аналіз показав, що на початку обробки донорів гонадотропними гормонами для збільшення кількості овуляцій велике значення має вміст каротину, а для виходу придатних ембріонів концентрація β-глобулінів (носіїв холестерину - важливого метаболіту для синтезу прогестерону і естрогенів) та рівня сечовини як показника інтенсивності білкового обміну. Після гормональної обробки в день статевої охоти (0-й день циклу) концентрація β-глобулінів і сечовини обумовлює у деяких донорів збільшення загальної кількості ембріонів та непридатних. У цей день статевого циклу рівень суперовуляції, загальна кількість та вихід придатних ембріонів у значній мірі залежать від концентрації глюкози.

48. Коефіцієнти кореляції між показниками суперовуляції та імуно-біохімічними метаболітами крові на 0-й день статевого циклу (n = 25).

Метаболіти	Жовтих тіл, шт	Ембріонів, шт		
		всього	придатних	непридатних
Загальний білок, г/л	0,251	0,20	0,137	0,216
Альбуміни, %	-0,44	-0,052	-0,027	-0,071
α-глобуліни, %	-0,237	-0,218	-0,221	-0,119
β-глобуліни, %	0,165	0,402*	0,326	0,331
γ-глобуліни, %	0,062	0,055	-0,062	-0,054
А/Г	0,072	0,055	-0,062	0,221
Ліпіди, ммоль/л	0,065	0,013	0,142	-0,197
Сечовина, ммоль/л	0,148	0,273	0,064	0,46*
Глюкоза, ммоль/л	0,44*	0,403*	0,484*	0,05
Каротин, мкмоль/л	-0,043	0,102	0,144	-0,017
БАК, %	-0,047	-0,252	-0,289	0,084
НБА, %	-0,12	-0,256	-0,138	-0,336

Примітка *P<0,05;

Таким чином, у донорів кореляційні зв'язки між показниками суперовуляції та метаболічного профілю змінюються залежно від дня статевого циклу. На початку гормональної обробки тварин концентрація β-глобулінів та сечовини вірогідно корелює з виходом придатних ембріонів відповідно +0,40 та +0,53, каротину з рівнем суперовуляції від'ємна 0,40, а в день статевої охоти донорів ці показники суперовуляції вірогідно (P<0,05) - з вмістом у крові глюкози +0,484 та +0,44.

НА ЗАКІНЧЕННЯ

Втручання в процес розмноження приматів обумовило виникнення ряду, названих біотехнологічними, методів розмноження. Запровадження їх у медичній практиці та сільському господарстві (штучне осіменіння, трансплантація ембріонів, довготривале збереження сперми та зародків, клонування, запліднення яйцеклітин і культивування *in vitro* та інші) дозволяє вирішити ряд проблем, пов'язаних із подоланням неплідності, профілактикою захворювань, збереженням видів і порід, селекційним процесом та підвищенням продуктивності сільськогосподарських тварин. Найбільшого практичного значення в тваринництві набули штучне осіменіння та трансплантація ембріонів. Спектр присвячених цим методам досліджень висвітлив ряд проблем, що потребують вирішення чи удосконалення, серед яких, у першу чергу, слід назвати отримання більшої кількості придатних для пересадження ембріонів та збільшення рівня їх приживлюваності у самиць великої рогатої худоби.

Організм тварин як єдине ціле пристосований до зовнішнього середовища на основі нейрогуморальної регуляції і має досконалі захисні механізми щодо вторгнення до нього антигенів. Але в ході еволюції, для збереження виду, у самиці розвинулась система толерантності до чужорідних білків (ембріонів), що містяться в спеціалізованих органах.

Дослідження свідчать, що ріст та розвиток доімплантаційних ембріонів, їх приживлення в матці зумовлені як екзогенними, так і ендогенними факторами. Серед останніх мофофункціональний стан статевих органів займає провідне місце. Інтенсивність змін у статевій системі залежить від обмінних процесів в організмі в цілому як в період статевого циклу, так і є результатом попередньої підготовки організму, коли екзогенні фактори відіграють провідну роль, до вагітності.

Застосування біотехнологічних методів відтворення дещо змінило відношення "мати-плід", і успіх приживлення трансплантованих ембріонів

залежить від глибини вивчення морфофункціонального стану репродуктивної системи самиці та організму в цілому. Безумовно, підкреслюючи пріоритет морфофункціональних досліджень, як доступних практикам, великої ваги набувають також більш глибокі біохімічні та імунологічні дослідження, що розкривають найінтимніші сторони цього процесу.

У забезпеченні толерантності організму самиці до чужорідних ембріонів велика роль належить морфологічним структурам яєчника: фолікулам та жовтому тілу, що були вивчені в першу чергу. Так, встановлено, що ріст та розвиток жовтого тіла завершується до 8-го дня еструсу формуванням його верхівки [147], а на 6-8-й день починається активне виділення прогестерону, синтез якого залежить від транспортування ЛПВЩ холестерину в орган, що зумовлює в крові самиці зростання концентрації гормону, від величини якої на 7-й день статевого циклу (в середньому >2 нг/мл) залежить рівень приживлюваності трансплантованих ембріонів. Розроблена нами на основі цих даних морфологічна та функціональна оцінка жовтого тіла на 6-8-й день статевого циклу, надає можливість відібрати 70-80% реципієнтів з необхідною концентрацією прогестерону в крові, у півтора-два рази підвищити приживлюваність пересаджених ембріонів [148].

Велике значення для приживлення пересаджених ембріонів має рівень обмінних процесів та стан природної резистентності реципієнта саме під час зазначеного періоду (6-7-й день статевого циклу) при визначній ролі в цьому процесі обміну глюкози та каротину. Так, відбір серед телиць-реципієнтів з морфологічно оціненими жовтими тілами тих, які мають у крові концентрацію глюкози та каротину відповідно в межах 2,22-2,775 ммоль/л і не нижче 5,24 мкмоль/л, супроводжується приживленням пересаджених ембріонів на рівні 80-100% [149]. Нами встановлено [150], що у реципієнтів, які стали тільними, на 7-й день естрального циклу в крові було менше глюкози та сечовини на 22,1 та 7,2%, а каротину більше на 14,8%. Інтенсифікація сечового циклу в організмі реципієнтів, сприяє зниженню

концентрації аміаку, який негативно впливає на обмін глюкози та дію інсуліну, знижуючи приживлюваність ембріонів [151].

Про постійну підготовку материнського організму до вагітності свідчить збільшення впродовж статевого циклу рівня клітинного імунітету і зменшення гуморального. Це підтвердило виявлене вірогідне зниження в крові піддослідних реципієнтів рівня γ -глобулінів на 7-й день статевого циклу. Вста-новлено також, що у реципієнтів, які стали тільними, рівень БАК на цей день одночасно вірогідно корелює з вмістом загального білку, глобулінів, альбумінів, сечовини, глюкози та каротину ($r = -0,69; +0,48; -0,49; -0,43; -0,58; +0,52$ відповідно), тоді як у нетільних лише з двома останніми метаболітами ($r = -0,75$ та $+0,60$). Отже, менший рівень БАК у період пересадження ембріонів сприяє їх приживленню. Спричинене при пересадженні ембріонів катетером подразнення слизової матки, а саме пошкодження її епітелію, призводить до збільшення в крові реципієнта БАК та ЛАК, але без зміни концентрації γ -глобулінів [152]. Ускладнення, що виникають внаслідок проходження шийки матки реципієнтів катетером, зумовлюють збільшення в крові вмісту γ -глобулінів, яке негативно впливає на приживлення ембріонів. Це слід враховувати під час виготовлення катетерів, особливо в плані чистоти обробки їх поверхні, та пересадження ембріонів.

Проводячи трансплантацію ембріонів у господарствах, де неможливо провести біохімічний аналіз крові тварин, можна скористатися відбором реципієнтів за інтенсивністю росту їх живої маси, яка у тих, що стали тільними, вірогідно корелює з концентрацією в крові на 7-й день еструсу сечовини, глюкози та каротину ($r = -0,54, -0,51$ та $+0,69, P < 0,01$ відповідно). Згідно з цим, пересадження ембріонів здійснюють телицям-реципієнтам з добре розвиненим жовтим тілом, які мали за 30-90 днів до трансплантації середньодобовий приріст живої маси на рівні 620-720 г [97]. Тому в практиці розведення худоби не можна нехтувати такою ознакою як маса телиць на час першого осіменіння.

Генетичний аналіз маточного поголів'я стада за поліморфними білками крові показав, що у гетерозигот рівень приживлюваності ембріонів був більшим, ніж у гомозигот. Виявлена також тенденція зменшення рівня приживлюваності ембріонів у реципієнтів при наявності в їх генотипі алеля Tf^D. Враховуючи, що 52% маточного поголів'я досліджуваного стада мало цей ген, очікувати в ньому високого середнього рівня приживлюваності трансплантованих ембріонів безпідставно. Крім того, рекомендації щодо відбору тварин за типом поліморфних білків крові тільки при виявленні позитивного їх зв'язку з продуктивними або іншими властивостями, без дослідження впливу такого відбору на відтворну функцію, робити недоцільно. Так, наприклад, Рухкян Л.А. із співавторами вважають бажаним для розведення тип тварин, гомозиготних за алеллю Tf^D, тільки на підставі їх кращих адаптивних властивостей.

Таким чином, проведені дослідження показали, що приживлення ембріонів у самиці залежить від морфофункціонального стану як організму в цілому, так і статеві системи на 7-8-й день статевого циклу, а саме: від інтенсивності формування жовтого тіла, зростання вмісту в крові прогестерону та ЛПВЩ, зниження вмісту γ -глобулінів та залежної від них БАК, оптимального рівня обмінних процесів, особливо глюкози і каротину та інтенсивності сечового циклу, тобто процесів, що інтегруються нервовою системою та зумовлені генотипом тварини.

Літературні джерела переконливо доводять залежність відтворної функції корів від збалансованості раціонів за певними мікроелементами (мідь, марганець, цинк, кобальт, йод) та вітамінами. Тому перший прийом корекції обмінних процесів полягав у комплексному застосуванні цих біологічно активних речовин у період підготовки телиць-реципієнтів до пересадження ембріонів.

У досліді було встановлено, що у реципієнтів, у раціоні яких мікроелементні добавки були з йодом, але без міді, статеве збудження характеризувалось високим ступенем прояву. У них у крові на 7-й день

статевого циклу збільшилась концентрація γ -глобулінів на 6,4% ($P < 0,05$), загального білку і ліпідів на 11,4%, 25% ($P < 0,01$) та вірогідно зменшився вміст каротину порівняно з початком основного періоду. Це спричинило зниження на 16,7% приживлюваності пересаджених ембріонів проти 50% у контролі та в групі, де в добавку із мікроелементів включили мідь без йоду. Зниження приживлюваності пересаджених ембріонів у реципієнтів цієї групи можна пояснити двома взаємозв'язаними процесами. По-перше, збільшення статевих збудження зумовлене надмірним вмістом у крові естрогенів, які порушуючи співвідношення статевих гормонів, негативно впливають на приживлюваність ембріонів [153]. По-друге, у організмі тварин за недостатньої кількості міді, але достатньої наявності кобальту та марганцю, значно вимивається йод з щитовидної залози [154], забезпечення якої в цей час відбувається шляхом екзогенного його притоку. Цей стан, а також вплив естрогенів [155], очевидно, стимулюють у залозі синтез трийодтироніну, про що побічно свідчить збільшення концентрації білків крові і, особливо, γ -глобулінів. Зростання в крові реципієнтів вмісту γ -глобулінів на 7-й день еструсу та одночасне зниження рівня приживлюваності пересаджених ембріонів підтверджують результати наших досліджень стосовно негативного впливу високої концентрації саме цієї фракції білку на приживлення зародків, тоді як зростання вмісту альбумінів його стимулює.

Отже, підготовка реципієнтів до пересадження ембріонів має полягати в вітамінній їх підгодівлі одночасно з включенням до раціонів комплексу мікроелементів, а саме: міді, йоду, марганцю, кобальту та цинку.

Серед біологічно активних речовин мінерального походження визначаються своїм широким спектром впливу на організм тварин природні сорбенти [156, 157]. Ці властивості зумовили доповнення раціону телиць-реципієнтів у період підготовки до пересадження ембріонів природним сорбентом - хумолітом з метою корекції обмінних процесів в їх організмі. На підставі досліджень запропоновано вітамінно - мінеральний премікс, до складу якого входять перераховані вище мікроелементи, препарат "Тетравіт"

та хумоліт у дозі 0,5 г на 1 кг живої маси, згодовування якого впродовж двох місяців сприяло нормалізації обмінних процесів у тварин з ознаками субклінічного кетозу, а також зменшенню в крові вмісту нітритів та нітратів, які негативно впливають на відтворну функцію тварин [158, 159]. Ці зміни в обмінних процесах у реципієнтів забезпечили 60% приживлюваності трансплантованих ембріонів.

Згодовування телицям чистого хумоліту у зазначеній дозі негативно вплинуло на швидкість росту живої маси. Особливо значне зниження (107,2 г) середньодобового приросту спостерігалось на третьому місяці досліду. У крові таких реципієнтів було вірогідно ($P < 0,05$) менше глюкози, β -глобулінів, каротину, але більше сечовини (відповідно на 12,7, 7,2, 22,3 та 16,2%), ніж у реципієнтів контрольної групи. На фоні збільшення вмісту в крові цинку, фосфору, кальцію, у тварин був відсутній марганець та зменшився рівень міді - відповідно на 7,8 ($P < 0,05$), 12,4 ($P < 0,01$), 4,1 та 10,5%. Такі зміни в обміні речовин спричинили нижчу приживлюваність ембріонів, яка у них становила 50% проти 60% у контролі. Отримані результати підтверджують припущення щодо негативного впливу дефіциту рівня міді в крові на приживлюваність ембріонів, наслідком якого є порушення процесів обміну вуглеводів. Це підтверджує і низький вміст глюкози та каротину в крові реципієнтів, що можна також розглядати як важливий аргумент висновку щодо ролі цих метаболітів у процесі приживлення ембріонів. На основі проведених досліджень розроблено: а) спосіб підготовки тварин-реципієнтів б) мінеральний премікс для оптимізації ефективності цього способу [160].

Крім тривалої 2-3-місячної підготовки телиць-реципієнтів шляхом згодовування їм раціонів, збагачених вітамінно-мінеральними добавками, на основі результатів досліджень був розроблений другий, більш ефективний, прийом корекції обмінних процесів в їх організмі з метою збільшення приживлюваності пересаджених ембріонів. Суть його полягає у використанні біологічно активних речовин під час стимуляції в реципієнтів статевої охоти аналогами простагландинів. Для цього був створений препарат "Глютам".

Теоретична передумова розробки препарату полягала у обов'язковій участі його субстратів у енергетичному та пластичному процесах обміну в репродуктивних органах і гіпоталамо-гіпофізарно-яєчниковій ендокринній системі з метою стимуляції приживлення та поліпшення умов для розвитку ембріонів. Тому до складу препарату були введені глютамінова кислота як погранична сполука, місце дії якої між пластичними та енергетичними обмінними процесами, що дозволяє їй при зміні функціонального стану тканин та органів включатися до різних метаболічних перетворень, та глюкоза, вміст якої в крові реципієнтів, згідно з нашими даними [150], має значний вплив на приживлюваність пересаджених ембріонів.

Експериментальна перевірка показала, що багаторазове введення "Глютаму" в комплексі із включенням до раціону мікроелементів та вітамінів нормалізує у телиць процеси обміну вуглеводів та знижує БАК, створюючи в репродуктивних органах сприятливі умови для приживлення трансплантованих ембріонів. Так, приживлюваність у таких реципієнтів становив 83,3% проти 42,9% у тварин, яким згодовували лише мінерально-вітамінні добавки, та 25% -у контрольних, позбавлених і першого, і другого.

Для перевірки стимулюючої дії препарату в умовах відсутності підгодівлі мікроелементами був проведений спеціальний науково-виробничий дослід, в якому було встановлено, що трикратне внутрішньовенне введення реципієнтам препаратів "Глютаму" в дозі 140 мл та внутрішньом'язове тетравіту у дозі 10 мл у період стимуляції статевої охоти простагландином, не викликаючи суттєвої різниці за імунобіохімічними показниками крові між дослідними та контрольними тваринами як відразу після другої ін'єкції, так і на 6-й день статевого циклу, зумовлює 40,9% приживлюваності "задовільних" ембріонів, тобто суттєво більше (на 29,8%) порівняно з контролем.

У досліджах було виявлено ряд морфофункціональних змін у крові, печінці та репродуктивних органах самиць, яким вводили біологічно активний препарат "Глютам". Так, в період введення препарату в крові реципієнтів

відбуваються вірогідні зміни концентрації глюкози, загального білку та активності АсАТ. На 7-й день статевого циклу у крові цих реципієнтів спостерігається тенденція збільшення порівняно з контрольними тваринами вмісту біологічно активного ЛГ, прогестерону та 17β -естрадіолу відповідно на 15,7%, 25% та 19,8%. Збільшенням рівня концентрації цих гормонів у крові реципієнтів підтверджується зростанням функціональної активності органів, що їх продукують. Так у дослідних тварин маса аденогіпофіза, жовтого тіла та розмір домінуючого фолікула на яєчнику були більшими відповідно на 12,2% ($P<0,05$), 12,3% та 65,9% ($P<0,05$). У цей же день еструсу в крові дослідних реципієнтів була більша концентрація вільних амінокислот на 17,3%, із них замінних на 13,7% і незамінних на 22,7% ($P<0,05$) та сечовини на 11,3%, вірогідно збільшився вміст амінокислот тирозину, гістидину, 1-метилгістидину, триптофану і аргініну.

У печінці реципієнтів, яким інтравенозно вводили препарат "Глютам" для стимуляції статевої охоти, інтенсифікуються процеси обміну вуглеводів в напрямку глюконеогенезу, який сприяє накопиченню глікогену, та виникають зміни в складі жирних кислот, вірогідно збільшується вміст пальмітинової, гіпогесвої та маргаринової кислот, відповідно на 2,08%, 0,13% та 0,47%. Арахідонова кислота входить до складу простагландину, тому особливий інтерес представляє її рівень у печінці як резерву для синтезу цього гормону. У телиць, яким вводили "Глютам", у печінці її було менше на 1,77%, ніж у контрольних тварин, але оскільки різниця статистично невірогідна, можна розглядати це явище лише як побічне свідчення стимуляції синтезу простагландинів, а значить і інтенсифікацію обмінних процесів в організмі.

У жовтому тілі яєчників дослідних телиць, враховуючи тенденції зростання рівня глікогену (на 11,6%) та зниження лактату і пірувату (відповідно на 4,6% та 17,8%), можна вважати, що процеси глюконеогенезу в ньому інтенсифікуються за рахунок використання останніх двох метаболітів. У той же час у цьому органі було менше (на 13-46%) фосфоліпідів, вірогідно

більше насичених і менше ненасичених жирних кислот, серед яких зменшився ($P < 0,05$) вміст: меристоолеїнової (14:1) - на 0,18%, пальмітоолеїнової (16:1) - на 0,55%, хирогонової (16:2 ω 4) - на 0,32%, гептадеценової (17:1) - на 0,23%, еландинової (18:1) - на 5,02 %, октадекатетраєнової (18:4) - на 0,19% та ейкозапентоєнової (20:5) - на 0,21 %.

У телиць, яким вводили "Глютам", у ендометрії рогів матки спостерігається інтенсифікація процесу глюконеогенезу, на відміну від жовтого тіла, за рахунок використання пірувату, глутамату, лактату та кетоглутарату. У цих тварин в ендометрії рога матки із сторони жовтого тіла було більше фосфатидилхоліну - на 15,7%, сфінгомієєліну - на 33,4%, фосфатидилінозитулу - на 67,3%, дифосфатидилгліцеролу - на 12,5% і фосфатидилгліцеролу - на 25%, а серед жирних кислот - гептадеценової кислоти (17:1) - на 0,14% ($P < 0,05$) порівняно з контрольними тваринами. У піддослідних самиць ендометрій рога матки із сторони яєчника з жовтим тілом у складі ліпідів мав тридецилову (13:0), меристоолеїнову (14:1), гіпогееву (16:1 ω 7) та октадекатетраєнову (18:4) кислоти, на відміну від протилежного рога матки.

На основі наведених вище досліджень було запропоновано препарат "Глютам" та розроблено спосіб стимуляції приживлюваності ембріонів у самиць великої рогатої худоби [116]. Препарат складається з натуральних компонентів, які виробляються промисловістю, може бути виготовлений в будь-яких господарських умовах, без складного обладнання, що забезпечує його низьку собівартість та можливість широкого використання в практиці тваринництва.

Біологічну дію препарату "Глютам" у організмі телиць слід розглядати на підставі ролі глутамінової кислоти в обміні речовин в організмі, яка є основним його інгредієнтом. Глутамінова амінокислота може включатися в енергетичні та пластичні обмінні процеси в тих чи інших органах, чи системах організму залежно від функціонального навантаження, яке вони виконують у даний момент. Як єдиній амінокислоті, що окиснюється в

тканинах мозку і є енергетичним джерелом для діяльності нейронів, їй властиві стимулюючий вплив на гіпоталамо-гіпофізарну систему [115], активність якої різко зростає у період індукції екзогенними простагландінами статевої охоти. Тому інтравенозне введення у цей період препарату в першу чергу буде забезпечувати субстратом ферментні енергетичні реакції у гіпоталамусі, а саме в центрах регуляції голоду і насичення, та гонадотропну функцію, що спричинює більший синтез гонадоліберинів. Виділення останніх зростає за рахунок стимуляції дофаміну, концентрація якого збільшується під впливом глутамінової кислоти [161]. Активізація центрів голоду та насичення в гіпоталамусі є однією з причин біохімічних змін у печінці та збільшення вмісту у крові дослідних тварин вільних амінокислот, особливо тирозину - попередника дофаміну [124]. Отже, більший вміст у крові самиць тирозину свідчить про інтенсивне виділення гонадотропних гормонів гіпофізом, що було експериментально доведене [162] внутрішньовенним введенням коровам цієї амінокислоти та підтверджено нашими дослідженнями. Підвищення після овуляції концентрації в крові телиць гонадотропних гормонів стимулює ріст домінуючого фолікула та жовтого тіла, про що свідчать їх більші розміри і маса, які зумовлюють інтенсивне виділення в кров 17β -естрадіолу та прогестерону. Подібні результати щодо росту жовтого тіла отримали на 10-й день після введення телицям 1500 од. хоріогонічного гормону [163]. Збільшення функціональної активності жовтого тіла під впливом ЛГ побічно підтверджується меншим вмістом у ньому холестерину (на 16,4%) та фосфоліпідів. Це зумовлено більшою концентрацією ЛГ, який інтенсифікує стероїдогенну активність у клітинах жовтого тіла через простагландини [164]. Для синтезу останніх необхідна арахідонова кислота [165], джерелом якої є фосфоліпіди. Слід підкреслити, що такі зміни вмісту фосфоліпідів додатково пояснюють збільшення рівня концентрації ЛГ в крові тварин, яким вводили препарат "Глютам".

Збільшення концентрації амінокислот у сироватці крові дослідних телиць, на нашу думку, пов'язане також з гормональною регуляцією їх транспортування [166]. Одним із важливих факторів, що забезпечує надходження амінокислот до клітин і включення їх у білок, є вплив стероїдних гормонів [167], рівень яких в крові зростає в зв'язку із інтенсивнішим ростом домінуючого фолікула (рис. 7).

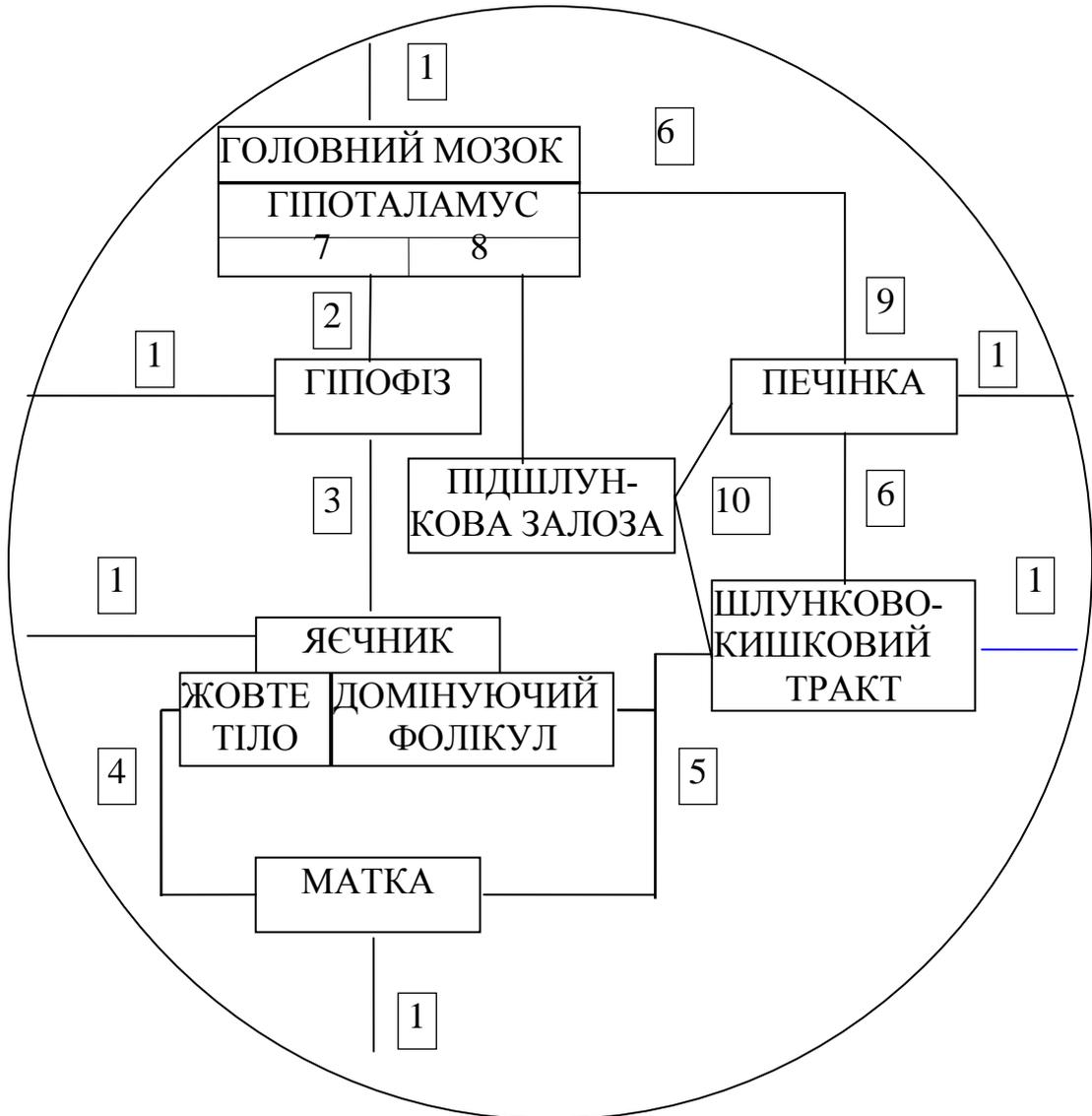


Рис. 7. Схема біологічної дії "Глютаму" в організмі телиць (1 - "Глютам"; 2 - рилізінг-фактори; 3 - ЛГ, ФСГ; 4 – прогестерон; 5 - 17β-естрадіол; 6 – амінокислоти; 7 - центр гонадотропної регуляції; 8 - центр голоду та загодованості; 9 γ-аміномасляна кислота; 10 - глюкагон, інсулін).

Інший шлях збільшення рівня амінокислот, можливо, полягає в стимуляції "Глютамом" керованого метаболізмом їх транспортування, сутність якої полягає в активації глюкозою енергетичних біохімічних реакцій. Глюкоза як джерело енергії збільшує абсорбцію амінокислот [168], рівень яких в шлунково-кишковому тракті може збільшуватись за рахунок рециклізації аміаку [169], стимульованої як прямо в епітелії стінки рубця, так і через нейроендокринну регуляцію кровообігу в ній. Карбамід, який всмоктується із рубця, використовується мікроорганізмами, в результаті збільшується рівень протеїну, який сприяє підвищенню в плазмі крові незамінних амінокислот у більшому ступені, ніж замінних [170], що було виявлено в нашому досліді [171]. Введення препарату "Глютам" телицям спричинює, як уже відмічалось, активацію в гіпоталамусі центрів голоду та нагодованості, що стимулює виділення глюкагону [172], який інтенсифікуючи глюконеогенез, індукує транспортування амінокислот, особливо незамінних. Останні в свою чергу стимулюють виділення інсуліну підшлунковою залозою [173], який зумовлює зниження вмісту глюкози в крові телиць, підтримуючи її гомеостатичну концентрацію. Про це свідчить майже однаковий рівень вуглеводу в крові тварин піддослідних груп на 7-й день статевого циклу. При введенні "Глютаму" в організм тварин скоріше всього задіяні ці два шляхи стимуляції транспортування амінокислот із шлунково-кишкового тракту в кров, що підтверджує зниження концентрації в крові ЛГ та інсуліну в корів з порушеною функцією відтворення [174].

Рівень естрогенів, які через цАМФ регулюють надходження амінокислот до матки самиці [175], у плазмі дослідних тварин був більшим, що зумовлює надходження останніх із кишківника в кровоносне русло і в ендометрій матки для синтезу білків, необхідних для росту та розвитку ембріона. У той же час вірогідне збільшення рівня незамінних амінокислот побічно підтверджує результати щодо стимулюючої дії "Глютаму" на процес синтезу стероїдних гормонів.

Інтенсивне виділення структурами яєчника прогестерону та 17 β -естрадіолу сприяло більшій енергозабезпеченості матки дослідних тварин, чому передувало підвищення глюконеогенезу, яке відбувається при умові високої концентрації АТФ і низької АМФ. Зростання вмісту фосфоліпідів в ендометрії рога матки із сторони яєчника з жовтим тілом у дослідних тварин найімовірніше пов'язані з конформаційними змінами та рівнем активності мембранних ферментів, виникаючих внаслідок більшої концентрації субстрату, і які свідчать про індукцію обмінних процесів під впливом більшої концентрації прогестерону та естрадіолу. Так, у матці щурів після ін'єкції 10 мкг естрадіолу різко зростає вміст фосфоліпідів [176]. Можливо, ця тенденція у згаданому розі матки дослідних тварин також пов'язана із збільшенням виходу глюкози із клітин ендометрію в ембріотроф. Адже на 7-й день еструсу у них відсутні гранули глікогену [177], що спричинює створення більшої кількості небіслойних структур мембран, які визначають особливу їх роль у транспорт-них процесах [178]. Зростання концентрації холестерину (на 22,4%) також сприяє транспортуванню метаболітів через мембрану, зокрема глюкози [179].

Отже, на підставі аналізу отриманих нами даних та джерел літератури можна вважати, що введення в кров біологічно активного препарату "Глютам" в дні статевого збудження через нейроендокринну регуляцію підвищує ензимну активність у клітинах, стимулюючи енерго-вуглеводні обмінні процеси в ендометрії, індукує зміни в мембранах, інтенсифікує транспортування метаболітів у ембріотроф.

Вплив препарату полягає також у включенні його в метаболізм у матці та печінці, яке інтенсифікує процеси глюконеогенезу та збільшує вміст вільного холестерину. Гіперглікемічний ефект препарату може бути спричинений також дією ГАМК, що утворюється в нервовій тканині в процесі декарбоксилювання глутамінової кислоти, наявність якої в крові в незначній концентрації 10⁻² мкмоль/мл стимулює поглинальність глюкози органами, особливо печінкою [180]. Збільшення енергетичних речовин у досліджуваних

органах та вмісту загального білку і амінокислот в крові свідчить, що "Глютам" інтенсифікує обмін речовин, який веде до накопичення структурно-енергетичного потенціалу функціонально активних органів, характерного для другої форми надлишкового анаболізму [181].

Рівень приживлюваності ембріонів у значній мірі залежить від якості пересаджених ембріонів, яку в більшості лабораторій визначають шляхом візуальної оцінки морфології ранніх ембріонів, що не завжди збігається з позитивно корелюючою з нею функціональною, а саме з життєздатністю ембріонів - основним критерієм якої є приживлення у реципієнтів. У практиці трансплантації ембріонів використовують найбільш розроблену і просту в користуванні морфологічну оцінку, за якою ембріони розділяють на придатні до пересадження ("відмінні" та "добрі") та непридатні ("задовільні", відсталі в розвитку, дегенеровані). Розробка способів корекції обмінних процесів в організмі донорів з метою отримання більшої кількості придатних до пересадження ембріонів стала третім напрямком збільшення приживлюваності ембріонів.

Варіабельність результатів суперовуляції у значній мірі обумовлена станом обмінних процесів у організмі донорів. Так, у плазмі донорів, від яких отримували непридатні ембріони, був низький рівень загального холестерину, фосфоліпідів та активність фосфатази [182], а у донорів з більшою патологією обмінних процесів (на 68,7%, $P < 0,05$) на 7-й день статевого циклу рівень суперовуляції та вихід придатних ембріонів були меншими відповідно на 18,9% та 62,3% проти контрольних [183]. Крім того, для нормального розвитку ембріонів велике значення мають білкові та вуглеводні обмінні процеси у організмі донорів [184, 185], про що свідчить також зменшення вмісту розчинних білків у печінці та підвищення їх у лімфоузлах, ендометрії, яєчниках, жовтих тілах та ембріотрофі [186].

Зазначають [187], що в яєчниках для синтезу стероїдних гормонів і прогестагенів у жовтому тілі інтенсивно використовуються ліпіди, перерозподіл яких та збільшення вмісту у матці відбувається під дією

гонадотропінів. Також було встановлено, що ФСГ впливає на рівень синтетичних і біоенергетичних процесів не тільки в органах-мішенях (матка, яєчники), а й в екстрагенітальних органах телиць [188,189], що підтверджують наші дані щодо збільшення маси селезінки як наслідку стимуляції суперовуляції [190]. Висока реактивність селезінки, можливо, пов'язана з тим, що вона є активним у імунному відношенні органом, який реагує на введення чужорідних білкових антигенів, - гормонів. Її активність багато в чому визначає ефективність суперовуляції, низький рівень якої спостерігається у тварин із більшою концентрацією γ -глобуліну плазми [182].

Б.П.Завертяєв [191] вважає, що жовте тіло діаметром 1,5 см є запорукою добрих результатів суперовуляції. Зіставленням морфологічної оцінки жовтого тіла донорів за розробленими нами критеріями для реципієнтів, метаболічного стану організму та результатів суперовуляції вдалося встановити, що тварини, у яких на 10-й день статевого циклу верхівка жовтого тіла виходить над поверхнею яєчника не вище як на 1 см, можна отримати в середньому до 20 овуляцій. При цьому вихід придатних для трансплантації ембріонів залежить від процесів обміну білків, вуглеводів та природної резистентності корів-донорів. Донори, у яких у цей день виявлені жовті тіла на обох яєчниках, мали такий рівень обмінних процесів, який обумовив отримання при стимуляції суперовуляції на 20% більше придатних ембріонів, тобто метаболічна ситуація у таких самиць сприятливіша для утворення повноцінних яйцеклітин та раннього ембріогенезу.

Серед екзогенних факторів профільююча роль за впливом на результативність суперовуляції у донорів належить гонадотропним гормонам - їх типу, активності, дозі, якості та дню (статевого циклу) введення. Наші гістологічні дослідження та дані щодо кількісного і якісного складу одержаних ембріонів від мишей-донорів є підставою стверджувати, що якість гонадотропних гормонів, впливаючи на морфологію та фолікулогенез яєчників, призводить до змін у ембріогенезі, а це в свою чергу позначається на виході придатних ембріонів внаслідок індукції поліовуляції. Тому при

випробуванні нових серій гонадотропних препаратів, поряд з кількісною характеристикою суперовуляції, слід враховувати і морфологію яєчників та фолікулогенез, а при проведенні досліджень, пов'язаних з стимуляцією поліовуляції, у всіх групах використовувати гормони однієї серії і мати на увазі цю особливість у практичній роботі.

Для нормалізації обмінних процесів у організмі донорів спробували внутрішньовенне введення стерильного, опроміненого ультрафіолетом 20%-вого гіпосульфату натрію в дозі 40 мл у нульовий день статевого циклу донорів та у корів з патологічним станом обмінних процесів. Гіпосульфат натрію має антитоксичну і протизапальну властивості, здатність стимулювати активність статевих гормонів, утилізувати надлишкову кількість нітратного азоту, сприяти засвоєнню каротину та азоту вуглеводів [192, 193]. Було встановлено, що на вихід придатних ембріонів у корів-донорів впливають їх обмінні процеси, охарактеризовані станом виявлених у крові анізотропних включень ЛПВЩ, а однократне внутрішньовенне введення коровам 20%-вого гіпосульфату натрію не нормалізує стану обмінних процесів у їх організмі. Тому подальші дослідження в цьому напрямку були припинені [183].

Серед біологічно активних речовин значний інтерес для корекції обмінних процесів являють природні сорбенти. Було встановлено, що після згодовування телицям-реципієнтам природного сорбенту хумоліту в дозі 0,5 г на 1 кг живої маси впродовж двох місяців у них не спостерігали істотних змін інтенсивності росту, які можна було б вважати свідченням негативного впливу заходу на обмінні процеси. Однак внаслідок появи деяких позитивних змін в мінеральному обміні і зниженні концентрації нітратів та нітритів у крові дослідних тварин було зроблено припущення щодо можливості поліпшення результатів суперовуляції у корів-донорів шляхом включення хумоліту до їх раціонів. Виявилось, що згодовування хумоліту в зазначеній вище дозі впродовж 6-70 днів не впливає на чутливість донорів до застосованих для стимуляції екзогенних гонадотропних гормонів, стабілізує

реакцію суперовуляції та забезпечує отримання на 19,2% більше придатних до пересадження ембріонів.

Оскільки суперовуляція у тварин пов'язана з напруженням всіх функціональних систем організму, закономірно виникає необхідність метаболічного їх забезпечення. Можна передбачити, що збільшення в організмі, в першу чергу, енергетичних та пластичних субстратів, в тому числі за рахунок такого препарату як "Глютам", при численній овуляції позитивно впливатиме на рівень виходу придатних ембріонів, тим більше, що цей показник вірогідно корелює ($r=+0,48$) з концентрацією глюкози в крові донорів в день їх осіменіння. Для перевірки цієї гіпотези та відпрацювання оптимальної схеми використання препарату у ВАТ «Племзавод Бортничі» були проведені три серії дослідів. У першому досліді виявилось, що чотирикратно введення внутрішньовенно коровам-донорам біологічно активного препарату "Глютам" в об'ємі 125 мл під час стимуляції суперовуляції, поряд із застосуванням ФСГ, зумовлює збільшення виходу придатних до пересадження ембріонів на 28,7% та у 10 разів яйцеклітин. Досліджувана доза "Глютаму" не спричинила значних змін у обмінних процесах, за винятком тенденції інтенсивнішого зменшення концентрації сечовини та стабілізації напруги бактерицидної активності крові.

Другий дослід проводився з метою зниження у донорів виходу яйцеклітин при стимуляції суперовуляції ФСГ у комплексі з препаратом "Глютам", для чого кількість ін'єкцій препарату в одній групі порівняно з першим дослідом була вдвічі зменшена, але збільшено до 140 мл її об'єм. Щоб досягти підвищення виходу ембріонів при одночасному зменшенні кількості яйцеклітин, донорам другої дослідної групи "Глютам" вводили чотирикратно - при стимуляції статевої охоти одночасно з ін'єкцією простагландину та вдруге наступного дня, а третій і четвертий раз - у перші два дні обробки тварин ФСГ.

Експериментальна перевірка цих схем показала, що використання під час стимуляції суперовуляції в донорів біологічно активного препарату "Глютам" збільшує вихід придатних для пересадження ембріонів на 18,9% (II схема) та

32,7% (I схема), а приживлюваність одержаних зародків у реципієнтів, відібраних за спонтанною охотою, - на 11,3%. Крім того, у донорів, оброблених за другою схемою, не виявили вимитих яйцеклітин. Менша ефективність суперовуляції при обробці донорів за другою схемою, очевидно, зумовлена інтенсифікацією "Глютамом" фолікулогенезу яєчників після перших двох ін'єкцій. Це підтвердили дані контрольною забою телиць [194].

Для зменшення затрат праці при використанні "Глютаму" в схемах індукції поліовуляції було запроваджено підшкірне його введення донорам в об'ємі 60 мл. Контролем у досліді слугували тварини, яким вводили фізіологічний розчин та препарат інтравенозно. Виявилося, що внутрішньовенне та підшкірне введення в організм донорів біологічно активного препарату "Глютам" сприяє збільшенню виходу придатних ембріонів відповідно на 83,1 ($P < 0,05$) та 78,8%. Підшкірне введення цього препарату донорам, хоча й скорочує затрати праці, але на 21,5% менш ефективне, ніж внутрішньовенне [195].

Отже, введення біологічно активного препарату "Глютам" у період стимуляції статевої охоти телиць простагландинами та суперовуляції у донорів фолікулостимулюючим гормоном обумовлює довготривалу функціональну активність як всього організму, так і окремих його систем, що спричинює збільшення енергетичного та пластичного потенціалу клітин органів та тканин, функціонально активних у цей період, а саме - системи відтворення тварин.

Таким чином, аналіз літературних джерел та результати власних досліджень впливу ендогенних та екзогенних факторів на приживлюваність ембріонів у самиць великої рогатої худоби були підставою для ряду гіпотез, експериментальна перевірка яких сприяла розробці способів оцінки функціонального стану фолікулів та жовтого тіла яєчників самиць, відбору і підготовки реципієнтів до пересадження ембріонів, стимуляції їх отримання у донорів та підвищення приживлюваності у телиць-реципієнтів. Одночасно було створено мінеральний премікс та біологічно активний препарат

"Глютам", запропоновані схеми використання яких обумовлюють збільшення виходу придатних ембріонів у корів-донорів та підвищення рівня приживлюваності трансплантованих. Морфобіохімічними дослідженнями обґрунтовано біологічну дію препарату "Глютам" на організм самиці в цілому та її статеву систему зокрема.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Остапко Ф.И., Безуглый Н.Д., Исаченко В.В., Дибиров М.К. Трансплантация эмбрионов: Новая технология // Агрпропром Украины, 1990.-5.- С.29-31.
2. Rommel P., Rehbok F., Kanitz W., Jenichen W. Superovulation, Besamung und embryotransfer beim Rind // Tagungsber. Akad. Landwirtschaftswiss. DDR.-1986.-№252.-P. 45-56
3. Шеремета В.І., Лакатош В.М., Опанасенко В.О. Зв'язок морфологічної оцінки жовтого тіла та деяких імунобіохімічних показників крові з рівнем суперовуляції у корів-донорів залежно від імунобіохімічних показників крові // Розведення і генетика тварин.- К.: Аграрна наука, 1996.- № 28.- С. 81-85.
4. Сергеев Н.И., Амарбаев А.Ш.М. Трансплантация эмбрионов крупного рогатого скота.- Алма-Ата: Кайнар, 1987.-160 с
5. Gordon J. Problems and prospects in cattle egg transfer // J.rish vet. J..-1975.- v.29.-P. 21-62.
6. Telfer E., Gosden R.G. A guantitative cytological study of polyovular follicles in mammalian ovarias wiht particular reference to the domestic bitch (lanis familians).- J.Reprod. ant Fert..- 1987.-81, №1.- P.137-147.
7. Kostov L. PMSG-Antiserum bei induzierter Superovulation von Donoren // Tagungsber. Acad. Landwirtschaftswiss. DDR.-1986.- № 252.- S. 127-128.
8. Олійник С.А., Зоценко Д.М. Гальмування перекисного окислення ліпідів аміназином і етазицином *in vitro*.// ІУ Український біохімічний з'їзд.- 1992.- ч.2.-С. 47.
9. Владимиров Ю.А. Влияние перекисного окисления на состояние мембран.- М., Наука, 1983.- 30 с
10. Терес Н.А. Комплексные мероприятия по профилактике заболеваний конечностей домашних животных при их специализированном откорме // Проблемы хирургической патологии с.-х. животных.- Б. Церковь, 1991.- С.84-85.
11. Ветеринарная энциклопедия.-М.: Советская энциклопедия, 1973.-т.4.- С.366
12. Маланин Л.Д., Морозов А.П., Селиванова А.С. Ветеринарные препараты (справочник).- М.: Агропромиздат, 1988.- 319 с.
13. А.с. 1584175 СССР Способ определения патологического состояния животных / Терес М.А., Курик М.В., Братюха С.И.- 4088238/30-15; Заявлено 09.07.86; Оpubл. 8.04.90.
14. Москалёв Ю.И. Отдалённые последствия ионизирующих излучений.- М.: Медицина, 1991.- 463 с

15. Casarett G.W. Radiation histopathology // Boca Raton CRC Press, 1980.- Vol.1.-P. 160
16. Ионизирующее излучение: источники и биологические эффекты.- НКДАР ООН, 1982.- 780 с.
17. Casarett G.W. Radiation histopathology // Boca Raton CRC Press, 1980.- Vol.2.-P. 170 h.
18. Хантер Р.Х.Ф. Физиология и технология воспроизводства домашних животных.- М.: Колос,1984.- 320 с.
19. Кауффольд П., Тамми И., Шихов И.Я., Альм Х., Эриг Ф., Фальге Р., Роммель П. Оценка качества эмбрионов крупного рогатого скота.- М.: Агропромиздат, 1990.-54
20. Виленчик М.М. Радиобиологические эффекты и окружающая среда.-М.: Энергоатомиздат, 1991.- 159 с.
21. Шадрин А.М., Лучко Г.В., Стюпин А.Д. Использование природных цеолитов в народном хозяйстве // Матер. Всес. совещ.-Новосибирск, 1991.-С.25-28.
22. Шеремета В.І., Богданов Г.О., Опанасенко В.О., Засекін Д.А., Лакатош В.М., Слеченко В.М. Коригування обмінних процесів у реципієнтів і донорів шляхом згодовування мінеральних добавок // Вісник аграрної науки .-1997.- № 10.- С.41-45.
23. Эрнст Л.К., Сергеев Н.И. Трансплантация эмбрионов сельскохозяйственных животных.- М: Агропромиздат, 1989.-304 с.
24. Шеремета В.І. Богданов Г.О., Опанасенко В.О., Поліщук В.П. Рекомендації щодо стимуляції суперовуляції у корів-донорів з використанням біологічно активних речовин // К.: Товариство "Знання України", 1999.-10 с.
25. Западнюк В.И., Купраш Л.П., Заика М.У., Безверхая И.С. Аминокислоты в медицине.- К.: Здоров'я,1982.- 198 с.
26. Abe M., Yamada O., Moryioshi M., Takehana K., Yamahuchi M., Iwasac K., Kawata K. Мофологические изменения в яичниках коров, влияющие на микроциркуляцию крови после суперовуляции // Rakuno gakuen daigaku kiyo = J. Coll. Dairying..- 1993.- 18, № 1-2.- P. 53-63.
27. Konig H.E., Amselgruber W.,Russe I. Zur Mikrozirkulation in Follikeln und Corpora lutea des Rinderovars - eine korrosionsanatomische // Jierarztel. Prax..-1988.-16, № 1.- P. 25-31.
28. Redmer D.A., Grazul A.T., Kirsch J.D., Reynolds L.P. Angiogenic activity of bovine corpora lutea at several stages of luteal developmment // J. Reprod. and Fert..-1988.- 82, №2.- P. 627-634.
29. Hoyel P.B., Fitz T.A., Niswender G.D. Hormone-independet activation of adenylate cyclase in large steroidogenic ovine luteal cells does not result in

- increased progesterone secretion // *Endocrinology*.- 1984.- 114, №2.- P. 604-608.
30. Guerin J.F. Les cybernines intra gonadiques // *Sci. vet. Med. comp.*- 1985.- 87, № 1-2.-P. 27-37.
 31. Aiila H.W., Hansel W. Origin of different cell types in the bovine corpus luteum as characterized by specific monoclonal antibodies // *Biol. Reprod.*- 1984.-31, №5.-P. 1015-1025.
 32. Gasse H., Peukert- Adam I., Schwarz R. Zur Ultrastruktur der Luteinzellen von Follikel-Leutein-System des Rindes // *Zuchthygiene*.- 1984.- 19, №2.- С. 74-82.
 33. Boos A., Meyer W., Hulsman H.G., Schwarz R. Histochemical study on the distribution and activity of alkaline phosphatase in bovine luteal tissue // *Anat., Histol., Embryol.*-1987.- 16 № 2 -P. 159
 34. Farin C.T., Sawyer H.R., Niswender G.D. Analysis of cell types in the corpus luteum of the sheep // *J. Reprod. and Fert. Suppl.*-1989.- № 37.- P. 181-187.
 35. Swall R.H., Sawyer H.R., Niswender G.D. Differential regulation by LH and prostaglandins of steroidogenesis in small and large luteal cells of the ewe // *J. Reprod. and Fert.*-1986.- 76, №2.- P. 821-829.
 36. Boos A. Enzyme histochemistry of bovine luteinized follicular cysts and corpora lutea of estrous cycle // *Zuchthygiene*.- 1988.- 23, № 2.- S. 65-77.
 37. Эскин И.А. Основы физиологии эндокринных желез.- М.: Высшая школа, 1975.- 303 с.
 38. Сысоев А.А. Физиология размножения сельскохозяйственных животных.- М.: Колос, 1978,- 360 с.
 39. Мицкевич М.С. Гормональные регуляции в онтогенезе животных.- М.: Наука, 1978.-222 с.
 40. Павлов В.А. Физиология воспроизводства крупного рогатого скота.- М.: Россельхозиздат, 1984.-208 с.
 41. Харута Г.Г.
 42. Смолянінов
 43. Безуглий М.Д. Методи біотехнології відтворення сільськогосподарських тварин // *Харьків*, 2002.- 154 с.
 44. Шаловило
 45. Дмитриев В.Б., Пономарева Т.Е. Концентрация прогестерона в крови коров в цикле и при беременности // *Бюллетень Всес. НИИ разведения и генетики с.-х. животных*.-1974.- № 3.- С. 40-43.
 46. Горев Э.Л. Содержание гонадотропинов в гипофизе и крови у коров // *Сельскохозяйственная биология*.- 1970.- т. V, № 6.- С.898-902.
 47. Иванова О.М., Радиоиммунологическое определение содержания прогестерона в сыворотке крови коров в течение нормального полового цикла и при фолликулярных кистах яичников // *Актуальные вопросы*

- акушерско-гинекологической и хирургической патологии с.-х. животных / Московская ветеринарная академия.- М., 1982.- С. 24-27
48. Прокофьев М.И. Регуляция размножения сельскохозяйственных животных.- Л.: Наука, 1983.- 263 с.
49. Ухоцкене Д., Свитоюс А. Приживляемость эмбрионов в зависимости от качества жёлтого тела реципиента // Тез. докл. науч.-практ. конф. "Управление воспроизводством с.-х. животных." Каунас: 18-20 октября 1989.- С.-30-31.
50. Шеремета В.І., Опанасенко В.О. Морфологічна оцінка яєчників телиць-реципієнтів // Тваринництво України.- 1995.- № 6.- 17 с.
51. Власенко С.А., Волков С.С., Харута Г.Г. Динаміка концентрації прогестерону в крові корів після осіменіння // Матеріали Першої Всеукраїнської наук.-вироб. конф. ветеринарних патологів "Актуальні питання ветеринарної патології" 13-15 листопада 1996.- К., 1996.- ч. 2. С.263-264.
52. Стояновский С.В. Биоэнергетика сельскохозяйственных животных: особенности регуляции.-М.:Агропромиздат, 1985.-223 с.
53. Климов А.Н. Липопротеиды плазмы крови, их функция и метаболизм // Биохимия липидов и их роль в обмене веществ.- М.: Наука.-С.45-75.
54. Кармолиев Р.Х. Электрофоретические свойства липопротеидов сыворотки крови беременных и лактирующих коров // Проблемы молекулярной биологии и патологии / Московская ветеринарная академия.-1979, т. 106.- С. 10-20.
55. Puppione D.L. Implications of Unique Features of Blood Lipid Transport in the Lactating // Cow.J.Dairy Sci.-1978,61, 5.-С.651-659.
56. Маслянюк Н.Ф., Янович В.Г., Иваняк В.В., Сенькусь М.А. Содержание липидов и липопротеидов в сыворотке крови высоко- и низкопродуктивных коров и их дочерей в различном возрасте // Обмен липидов у сельскохозяйственных животных / Бюлетень ВНИИФБПСХ.- 1978.-вып. 5(52).-С. 33-34.
57. Савойский А.Г., Адамушкина Л.Н. Обмен липидов у высокопродуктивных коров при гепатозе // Регуляция физиологических функций продуктивных животных / Московская ветеринарная академия.- М.,1993.-С.88-92.
58. Кармолиев Р.Х. Липопротеиды и гликопротеиды сыворотки крови как показатели патологии обмена веществ высокопродуктивных коров // Проблемы молекулярной биологии и патологии сельскохозяйственных животных / Московская ветеринарная академия.-1980, Т.113.-С.3-11.
59. Кармолиев Р.Х. Липопротеиды и гликопротеиды сыворотки крови как показатели патологии обмена веществ высокопродуктивных коров //

- Проблемы молекулярной биологии и патологии сельскохозяйственных животных / Московская ветеринарная академия.-1980, Т.113.-С.3-11.
60. Криворучко И.В., Маграчѐва Е.Я., Никульчева Н.Г. Черниговская С.В., Янушкене Т.С. Липопротеидный спектр крови у практически здоровых лиц и у лиц с нарушенным обменом липидов по данным электрофореза в полиакриловом геле // Липиды в организме животных и человека.-М.: Наука.- 1974.- С. 65-72.
61. Stevanovic J., Vitic J., Trailovic D., Mijatjvic N. Some protein and lipid alterations in serum of show jumping horses during different phases of training // Acta vet.-1996, 46, 2-3.- P.81-86.
62. Любецкая В.Г. Влияние тироксина на спектр липопротеидов крови белых крыс разного возраста // Физиология и биохимия и биофизика возрастного развития- К.: Наукова думка.-1980.- с.182-187.
63. Seiguer L., Manas M., Martines -Victoria E. Ballesta fet source (sunflower or olive oil) on LDL composition and serum lipid levels in miniature swine (usserofa) // Compar. Biochem. And Phisiol. B.-1995.-111, 2 .-P. 163-169.
64. Bujo N., Yomamoto T., Hayashi K., Hermann M., Nimpf J., Shcneider W.J. Mu-tant oocytie low density lipoprotein receptor gene family member canses atero-sclerosis and femasle sterility // Proc. Nat. Sci. USA.-1995.-92, 21.-P. 9905-9909.
65. Macha L., Gerza M., Dolezal P. Lipemie krevni plasmı v pospartalnim obdobi krav ve vztahu ke koncepci // Zivoc vyroba .- 1996 .-41,1.-С. 5-8.
66. Кармолиев Р.Х. Липопротеиды сыворотки крови - показатели интенсивности проимежуточного обмена липидов в организме крупного рогатого скота // Доклады ВАСХНИЛ.- 1981, 11 .- С. 31-33.
67. Кармолиев Р.Х. Молекулярные механизмы метаболизма липопротеидов сыворотки крови в организме лактирующих коров // Доклады ВАСХНИЛ.-1987, 7.-26-29
68. Carroll D.J., Grummer R.R. Progesterone production by cultured bovine luteal cells in the presens of bovine low and high dnsity lipoproteins purified by heparin affinity chromatodraphy: {Abstr.} 86 th Annu. Meet. Amer. Dairy Sci. Assoc. (ADSA), Logan, Utah, Aug. 12-15, 1991 // J. Dairy Sci.-1991.- Suppl. 1.-С. 195.
69. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Типы гиперлиппротеинемий, их связь с атеросклерозом и лечение // Кардиология - 1972.-6.- С.130-133.
70. Adeyem O., Heath E. Plasma progesterone concentration in bos taurus and bos Indicus heifers // Theriogenology.- 1980.- 14, № 6.-С. 411-420.
71. Пат.29035 МПК 6 А 61 D 19/04 Спосіб оцінки функціональної активності жовтого тіла яєчників /Шеремета В.І.- № 97126058 Україна, Заявл. 16.12.97; Опуб 16.10.2000 Бюл.№5-ІІ.

72. Мингазов Т.А. Профилактика эмбриональной смертности у животных // Весник с.-х. науки Казахстана.-1986, № 9 .- С. 65-70.
73. Патология обмена веществ у высокопродуктивного крупного рогатого скота / Луцкий Д.Я., Жаров А.В., Шишков В.П. и др.-М.: Колос, 1978.- 384с.
- 74.Хазимухаметова И.Ф. Динамика показателей углеводного и витаминного обмена у больных гепатозом коров в зависимости от степени поражения печени // Тез. докл. науч. конф."Актуал. пробл. интенсиф.живодноводства в исслед. Мол. Ученых Юж. Урала".-Троицк,1989.- С.14.
75. Власов А.И., Сологуб Г.Л., Станишевский Е.Ф., Ковалок А.Г., Булычева А.Т., Влияние различных режимов скармливания кормового препарата микробиологического каротина на воспроизводительную функцию коров // Лечеб.-профилактич. меры против незараз. и зараз. заболеваний с.-х. животных.- Одесса, 1987.- С. 43-49.
76. Рихтер В., Вернер Э., Бэр Х. Основные физиологические показатели у животных и технология содержания: Пер. с нем.- М.: Колос,1982.- 191 с.
77. Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии / Кондрахин И.П., Курилов Н.В., Малахов А.Г. и др.-М.:Агропромиздат, 1985.- 286 с.
78. Лабораторные методы исследований в клинике / Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотницкая Р.П. и др.-М.: Медицина, 1987.-365 с
79. Теппермен Дж., Теппермен Х. Физиология обмена веществ и эндокринной системы: Пер. с англ.-М.: Мир, 1989.-653 с.
80. Эммрих (1982) цит. по Берёзов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия.- М.: Медицина, 1983.- 749 с.
81. Грибан В.Г. Обмін речовин та продуктивність корів при використанні в раціонах кормового препарату мікробного каротину // Тез. допов. ІV Українського біохімічного з'їзду.- час. II.- Київ,1992.- С. 20
82. Вольский Н.Н. Иммуная система как орган адаптогенеза // Методологические аспекты современной иммунологии.- Новосибирск: Наука, 1991.- С. 36-45.
83. Петров Р.В., Хаитов Р.М. Иммунологические механизмы клеточного гомеостаза // Гомеостаз.- М.: Медицина,1981.- С. 312-362
84. Ярилин А.А., Шарий Н.И. Иммуитет и радиация // Биология.-1991, №6.- 62 с.
85. Емельяненко П.А. Иммуная система жвачных // Проблемы ветеринарной иммунологии.- М.: Агропромиздат, 1984.- С.40-46.
86. Емельяненко П.А. Иммунология животных в период внутриутробного развития.- М.: Агропромиздат, 1987.- 214 с.
87. Емельяненко П.А. Корреляционно-регрессионный анализ влияния гуморальных факторов естественной резистентности на бактерицидную

- активность сыворотки новорожденных телят // Докл. ВАСХНИИЛ.- 1979.- №7.- С. 35-36
88. Абдулаев М.А. Наследуемость иммунобиологической реактивности у каракульских овец // Зоотехния.- 1988.-№6.- С. 25-26.
89. Соколовская И.И., Милованов В.К. Иммунология воспроизведения живот-ных.-М.: Колос,1981.- 221 с.
90. Волкова Л.С. Иммунобиологические взаимоотношения организмов матери и плода.- М.: Медицина, 1970.- 264 с.
91. Вязов О.Е. Основы иммуноэмбриологии.- М.: Медицина, 1973 .-153 с.
92. Яблонский В.А., Кот Е.П., Пригара В.В. Изменения иммунологической реактивности организма телок и коров по периодам воспроизводительной функции // Тез. докл. симпоз. "Трансплантация эмбрионов у крупного рогатого скота", Тарту 22-23 октяб. 1986.-Таллин, 1986.- С. 59-60.
93. Некрасова И.И. Естественная резистентность коров различных типов стрес-устойчивости // Нуч.производ конф. "Профилактика незаразных болезней и продуктивность животных".- Казань,1981.- С. 41-43.
94. Шеремета В.І., Богданов Г.О., Семенова Е.І., Опанасенко В.О.,Поліщук В.П. Приживлюваність ембріонів у телиць-реципієнтів з різним генотипом за поліморфним білком // Тез. доп. наук.-вироб. конф. "Теоретичні й практичні аспекти породоутворювального процесу у молочному та м'ясному скотарстві".- Київ Асоціація "Україна", 1995.- С.250.
95. Бугров А.Д., Хмельников В.Н., Коркин В.А., Карташов В.Ф., Шеховцов С.Ю., Невинный Н.А., Зверева Г.С., Шеховцова Е.Ю., Масс А.А. Совершенствование технологии трансплантации эмбрионов и ее использование в практике молочного скотоводства // Теор. и прикл. аспекты биотехнол. / Укр. акад. аграр. наук.- К.,1991.- С.30-32.
96. Земсков М.В., Соколов М.Н., Земсков В.М. Основы общей микробиологии, вирусологии, и иммунологии .- М.: Колос, 1977.- 311 с.
97. Шеремета В.І. Особливості росту телиць-реципієнтів та приживлюваність у них ембріонів // Науковий вісник Національного аграрного університету .- 1998.-№ 1.-С. 91-95.
98. Солдатенков Н.К., Сердюк Г.Н. Влияние иммуногенетической несовместимости родительских пар на сохранность молодняка свиней в промышленном свиноводстве // Бюл. ВНИИ разв. и генет. с.-х. животных.-Л.,1989.-вып.110.- С.29-33.
99. Потапова Д.А. Влияние иммуногенетических факторов на плодовитость кобыл // Интенсификация селекции и технологии выращивания лошадей.- М.: Колос, 1988.- С. 76-80.

100. Кабилов С.Ш. Связь групп крови с воспроизводительными способностями крупного рогатого скота // Тр. Узб. НИИ животновод.- 1989.- № 56.- С. 50-54.
101. Максимов Ю.Л. Использование иммунологических методов для прогнозирования сочетаемости родительских пар // Тез. докл. науч.-практ. конф. "Биотехнология и воспроизводство в животноводстве", Горки, июнь 1991.- Горки, 1991.- С. 47-48.
102. Семенова Э.И. Равновесное состояние популяции по комплексу признаков, его селекционное значение и способы определения // Разведение и искусственно-осеменение крупного рогатого скота.- К.: Урожай, 1984.- С. 16-19
103. Ebertus R. Polimorphismus beim Rind // Fortphfl. Haus Tier.-1967.-3.-С. 265-270.
104. Шеремета В.І. Вплив генотипу телиць-реципієнтів за поліморфними біл-ками на приживлюваність ембріонів // Вісник аграрної науки.- 1998.- № 8.- 44-47.
105. Розробити та впровадити біотехнологічні методи інтенсифікації відтворення генетично цінних тварин, оптимізації їх годівлі для прискорення селекційного процесу по створенню племінних стад з удоєм корів вище 7 тис. кг молока на рік: Звіт про НДР (заключний) / Національний аграрний університет.- № ДР 0193 U 022125 РК; Інв. № 0296 U 003157 ІК.-К., 1995.-78 с.
106. Рухкян Л.А., Назаретян С.М., Миргаянц М.М., Григорян В.Х., Мелконян Л.М. Некоторые показатели продуктивности чистопородных и помесных коров, их связь с типами гемоглобина и трансферина // Тр. Ереванского зоовет. института.- 1990.- 62.- С. 49-55.
107. Bozic T., Godanski-Omerjvic G., Samane H., Damyranovic L., Radakavic N. Polimorphism of alfa amylase in the of Holstein cows. 1. Cjrrelation between Aml phenotypes and incidence of ketosis // Acta vet. .-1990.- N 5-6.- P. 263-268.
108. Довгопол В.Ф., Коновалов В.Н. Повышение приживляемости эмбрионов // Зоотехния.- 1991.- № 1.- С. 55-57.
109. Варнавський А.Н., Горбунов В.И. Перспектива применения трансплан-тации эмбрионов в скотоводстве // Зоотехния.- 1989.- № 2.- С.55-57.
110. Brewer N.R. Comparative metabolism of copper // Amer. Vet. Med. Assoc.- 1987.-1987.- 190, № 6.- С. 654-658.
111. Michel V.L. Role der profiels metaboliques dans la Recherche des causes, des Malodies de production dans Zespese bavine // 9-e Congres international sur lee maladies du beteil.- Peri, 6-9 sept. 1976.- Peris, 1976.- P. 571-582.

112. Микроэлементозы сельскохозяйственных животных / Судаков Н.А., Онипенко В.С., Козачок В.С. и др.- К.: Урожай.- 1974.- 152 с.
113. Бельденков А.И. Физиологическое обоснование использования цеолитов в производстве комбикормов для молодняка крупного рогатого скота // Бюл. науч. работ ВНИИ животновод.-1986.-№ 84.- С. 42-44.
114. Ленинджер А. Биохимия. Молекулярные основы структуры и функции клетки: Пер. с нем.-М.: Мир,1976.- 958 с.
115. Волков М.С., Генкин А.М., Глотов Н.А., Маевский Е.И. Глутаминовая кислота. Биохимические основы практического использования.- Свердловск : Средне-Уральское книж. изд., 1975.- 119 с.
116. Пат. 95125209 Україна, МКИ А61D 19/02, А01К 67/02 Спосіб стимуляції приживлюваності ембріонів у самок сільськогосподарських тварин та препарат "Глютам" для використання в ньому / Шеремета В.І., Богданов Г.О., Опанасенко В.О., Луцик А.А.-№ 17291А; Заявл.11.12.95; Опубл.01.04.97.-4 с.
117. Reed M. L., Roussel J.D. Repeatability of blood progesterone levels in embryo transfer recipients // Theriogenology.- 1984- 21 № 1.-P. 257-259.
118. Veier H.M. Uteroglobulin: a hormone-sensitive endometrial protein involved in blastocyst development // Biochim. et biophys. Acta.-1968.-160.- P. 289-291.
119. Стояновский С.В. Биоэнергетика сельскохозяйственных животных: особенности регуляции.-М.:Агропромиздат, 1985.-223 с.
120. Тряпышко А.Д. Содержание свободных аминокислот в сыворотке крови при некоторых болезнях печени // Тер. арх.- 1971.-№4.- С.66-69.
121. Боднар П.Н. Свободные аминокислоты крови при сахарном диабете // Клиническая медицина.- 1972.- №9.-С. 127-131.
122. Миронова И.С., Андросова С.О.,Полянцева П.Р. Содержание свободных аминокислот в сыворотке крови у больных нефротическим синдромом // Клиническая медицина.- 1974.- №2.- С.123-127.
123. Механизмы действия гормонов // Биохимия гормонов и гормональной регуляции / Юдаев Н.А, Афиногенова С.А., Булатов А.А. и др.-М.: Наука 1976.- С.326-374.
124. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия.- М.: Медицина, 1982.- 749 с.
125. Curran P. Active transport of amino acid and sugars // Arch. Intern. Med.- 1972.- 129.- P.258-269.
126. Усатюк П.В., Волков Г.В., Цвилюховский Н.И., Мельничук Д.А. Характеристика липидного состава плазматической мембраны энтероцита крупного рогатого скота // Докл. АН УССР. Сер. Б., геол., хим. и биол. науки.- 1989.-№7.- С. 76-78.

127. Бриль Э.Е., Мараховский Ю.Х. Радиоиммунологический метод определения концентрации прогестерона в крови коров // Весник с.-х. науки.-1976.- № 10.- С. 120-124.ï
128. Волков М.С., Генкин А.М., Глотов Н.А., Маевский Е.И. Глутаминовая кислота. Биохимические основы практического использования.- Свердловск : Средне-Уральское книж. изд., 1975.- 119 с.
129. Robinson N.S., Stray F., Talbert L. Investigation of the essential boundary layer phospholipids of cytochrom c ooxidase using triton X-100 // Biochemistry.-1980.-19, № 16.- P. 3656-3661.
130. Daum G. Lipids of mitochondria // Biochim.et biophys. acta.-1985.-822, №1.- P. 1-42.
131. Gullis P.R., De Gruijff B. Lipid polimorvum and the functional roles of Lipids in biological membranes // Biochim.et biophys. acta.-1985.-559, № 4.- P. 399-420.
132. Saito G., Silbert D.F. Selwective effects of membrane sterol depletion on surphase function thymidine and 3-methyl -D-glucose transport in a sterol auxotroph // J. Biol. Chem..-1979.- 254, № 4.- P. 1102-1107.
133. Кювье Ж. /1912/ О переворотах на поверхности земного шара.- М.-Л.:Биомедгиз,1937.-129 с.
134. Дарвин Ч. /1859/ Происхождение видов.- М.-Л.: Биодмедгиз, 1937 .- 762 с.
135. СеверцовА.Н. Морфологические закономерности эволюции.- М.-Л.:АН СССР, 1939.- 610 с.
136. Шмальгаузен И.И. Организм как целое в индивидуальном и историческом развитии.- М.-Л.: АН СССР,1938.-1938.-144 с.
137. Женеvская Р.П. Нервно-трофическая регуляция пластической активности мышечной ткани.- М.: Наука, 1974.-239 с.
138. Алексеевич Л.А. Генетические аспекты поведения сельскохозяйственных животных // Физиологическая генетика и генетика поведения.- Л.: Наука, 1981.- Гл.8.- С. 281-296.
139. Беляев Д.К., Трут Л.Н. Поведение и воспроизводительная функция животных. II. Коррелятивные изменения при селекции на приручаемость // Бюл. МОИП. Отд. Биол.- 1964.-вып. 4 .- С.-5-14.
140. Леутгольд Г. Перспективы применения биохимико-физиологической генетики в животноводстве // Актуальные вопросы прикладной генетики в животноводстве.-М.:Колос, 1982.-Гл.I.- С.7-31.
141. Лесли Дж.Ф. Генетические основы селекции сельскохозяйственных животных.- М.: Колос,1982.-390 с.
142. Преобразование генофонда пород / М.В.Зубец, Ю.М.Карасик, В.П.Буркат и др.- К.: Урожай,1990.-352 с.

143. Власова К.А. Цит.із книги Науково-технічний прогрес у молочному скота-рстві / Славов В.П., Карасик Ю.М., Власов В.І. і інші.- К.:Урожай,1992.-197 с.
144. Erle K., Jacob D., Uecker B., Richter P. Entwicklung und Retardierung der Befruchteten Eizelle und der Keimlinge in Bezug zur embryonalen Mortalität beim Schwein // Tagungster. Landwirtschaftswiss.-1987.-№259.- S. 107-114.
145. Becze J., Meszaros J. Donortehenek mihvaladekenar pH-erteke es embrioinak eletkepessege kozotti osszefugges // Magy. Allatorv. Lapja.-1987.- 42, №11.- P. 653-655.
146. Flood M.R., Wiebolof J.L. Glucose metabolism by preimplantation porcine embryos // J. Anim. Sci.-1987.-65.- P. 514-521.
147. Farin C.T., Sawyer H.R., Niswender G.D. Analysis of cell types in the corpus luteum of the sheep // J. Reprod. and Fert. Suppl.-1989.- № 37.- P. 181-187.
148. Шеремета В.І. Оцінка функціональної активності жовтого тіла яєчників телиць-реципієнтів // Науковий вісник Національного аграрного університету.- 1998.-№ 4.-С. 111-116.
149. Пат. 22350 А Україна, МКИ А 61 D 19/04. Спосіб відбору тварин-реципієнтів / Шеремета В.І., Богданов Г.О., Лакатош В.М., Опанасенко В.О. (Україна).- № 97030999; Заявл. 06.03.97.; Принято рішення 03.02.98.
150. Шеремета В.І. Стимуляція приживлюваності ембріонів у телиць-реципієнтів // Тваринництво України.-1998.-№ 8-9.- С.9-10.
151. Visek W. Ammonia: Its effects on biological systems, metabolic hormones, and reproduction // J/ Dairy Sci.-1984.-67, № 3.- С. 481-498.
152. Шеремета В. Овогон-тіо при трансплантації ембріонів // Тваринництво України.- № 3.-С. 18-19.
153. Судаков Г.И., Шамаров Г.И., Бенемецкий Ю.С., Афонин А.С. Гормональный статус при эмбриональной смертности у коров и методы его нормализации // ВАСХНИЛ. СО. Сиб. н.-и. и проект.-технол. ин.-т животновод.-1990.- № 4.- С. 14-16.
154. Микроэлементозы сельскохозяйственных животных / Судаков Н.А., Онипенко В.С., Козачок В.С. и др.- К.: Урожай.- 1974.- 152 с.
155. Kahl S. Zachowanie sie hormonow tarczycy podcxas stymulacji wzrostu przez estrogeny u przezuwaczy // Zesz. nauk. AR Krakowie. Rozpr. habilit.-1987.- № 111.- С. 1-63.
156. Ревунець А.С., С.М.Калиновський Вплив домішок сорбентів до раціону тільних корів на забруднення радіонуклеїдами фетальної плаценти, навколоплідних рідин і молозива // Науковий вісник Національного аграрного університету .-2000.-№22.- С.221-223.

157. Черноградская Н.М. Практическое применение цеолитов Хонгуринского месторождения в скотоводстве Якутии // Тез. докл. Междунар. Конф. Баренц. Евро-Аркт. региона, Петрозаводск, 1-3 окт., 1996 "Животновод. на Европ. Севере: фундам. пробл. и перспек. развития".- Петрозаводск, 1996.- С. 300-301.
158. Буряков Н.П., Буряков М.А. Отравление животных нитратами (профилактика, лечение) // Ветеринария.- 1995.- № 11.-С. 48-50.
159. Grigore P., Bodocea n., Maruca M. Hemoragiile estrale si post-estrale la taurine si continutul de azotati-azotiti in apa si furaje // Met. vet. si crest. anim.- 1994.-[44], № 1.- С. 69-76
160. Пат. 22400 А Україна МКИ А 61 F 19/04 Спосіб підготовки тварин-реципієнтів та мінеральний премікс для його здійснення / Шеремета В.І., Богданов Г.О. (Україна).- № 97031202; Заявл. 18. 03. 97; Опубл. 03.03.98.
161. Calvert D.T., Shennan D.B. Evidence for an interaction between cationic and neutral amino acid at the blood-facing aspect of the lactating rat mammary epithelium // J. Dairy Res.-1996.-63, № 1.- С. 25-33.
162. Gfn. 3527356 A1 FRG MKU A61 K 31/195, Verfahren zur Verbesserung der Fruchtbarkeit von Haustieren / Russe M.W., Koch F., Bolze R.; Degussa AG.- Заявл.31.07.85, № P3527356.9, опубл. 05.02.87.- 23 с.
163. Helmer S.D., Britt J.H. Hormone secretion asnd characteristics of estrous cycle after treatment heifers with human chorionic gonadotropin or prostaglandin F_{2α} during corpus luteum formation // J.Anim. Sci.- 1987.- 64, № 3.- P. 782-789.
164. Grazul A.T., Kirsch J.D., Redmer D.A. Effects of LH, prolactin and prostaglandin F_{2α} on hormone secretion by bovine luteal cells at different stages of the estrous cycle // J. Anim. Sci.-1987.- 65, Suppl. 1.- P. 364.
165. Helmer S., Brunswig B. Arachidonic acid metabolism and steroidogenesis in vitro by bovine luteal cells // Acta endocrinol.-1985.-108, Suppl. № 26.-P.103-104.
166. Шеремета В.І. Вплив біологічно активного препарату "Глютам" на рівень статевих гормонів телиць // Науковий вісник Національного аграрного університету.- 1998.-№ 6.- С. 138-140.
167. Биохимия гормонов и гормональной регуляции / Юдаев Н.А.,Афиногенова С.А., Булатов А.А. и др..- М.: Наука, 1976.- 380 с.
168. Curran P. Active transport of amino acid and sugars // Arch. Intern. Med.- 1972.- 129.- P. 258-269
169. Шеремета В.І. Приживлюваність ембріонів залежно від стану обмінних процесів в організмі телиць-реципієнтів // Вісник аграрної науки.- 1997.- № 12.- С. 29-32.
170. Градусов Ю.М. Усвояемость аминокислот.-М.: Колос, 1979.- 400 с.

171. Шеремета В.І., Новак О.Л. Вміст вільних амінокислот у сироватці крові телиць при використанні глютаму // Вісник аграрної науки .-1999.- № 9.- С.32-35.
172. Kuhara T., Ikeda S., Ohneda A., Sasaki Y. Effects of intravenous infusion of 17 amino acids on the secretion of GH, glucagon, and insulin in sheep // Amer. J. Physiol..-1991.-260, №1.- Pt 1.-P. E21-E26.
173. Александров Стефан Ефект на интравеноза инфузия на незаменими аминокиселини върху нивото на инсулина в кръвната плазма на овни // Животноъд. науки.-1986.-23.-№ 11.- С.50-54.
174. Клинский Ю, Д., Дедов Ю.М., Чомаев Ф.М., Жебровский И.А. Изучение гормонального статуса у коров в зимне-весенний период // Бюл. науч. работ ВНИИ животноводства. 1987.- №87.-С. 60-62.
175. Schepartz P. (1973), цит. з Западнюк В.И., Купраш Л.П. Заика М.У., Безверхая И.С. Аминокислоты в медицине.- К.: Здоров'я, 1982.- 200 с.
176. Mueller G.C. Биохимические показатели действия эстрогенов // Матер. конф."Биологическая активность стероидов при раке "- М.: Медицина, 1965.- С. 98-115.
177. Афанасьев Н., Узуленья Я. Гликоген и мукополисахариды эндометрия коров в различные фазы полового цикла // Труды Латвийской с.-х. академии.-1970.-вып. 44.-С. 170-175.
178. Gullis P.R., De Gruijff B. Lipid polymorphism and the functional roles of Lipids in biological membranes // Biochim. et biophys. acta.-1985.-559, № 4.- P. 399-420.
179. Saito G., Silbert D.F. Selective effects of membrane sterol depletion on surfactant function thymidine and 3-methyl -D-glucose transport in a sterol auxotroph // J. Biol. Chem..-1979.- 254, № 4.- P. 1102-1107.
180. Бунятян Г.Х. Некоторые обменные процессы, связанные с гамма-аминомасляной кислотой // Матер. Всес. конф. "Обмен аминокислот".- Тбилиси: Мецниереба, 1967.- С. 85-99.
181. Аршавський А.И. Очерки по возрастной физиологии.- М.: Медицина, 1967.- 476 с.
182. Кобулей Д.Э., Ковалив Л.Н., Отава О.М., Бучко А.М., Сливчук Ю.И., Смолянинов Б.В., Розгони И.И. Исследование содержания липидов в некоторых висцеральных органах телок при индукции полиовуляции // Тез. докл. Всес. Науч.-техн. конф. "Использ. Гормон. Препаратов в животновод.", посвящ. 100-летию со дня рожд. Акад. М.М.Завадовского, пос Дубровицы, Моск. обл., 1-2 октября 1991.-М., 1991.-С.97-98.
183. Шеремета В.І., Терес М.О. Вплив деяких антиоксидантів на показники суперовуляції у корів-донорів // Розведення і генетика тварин.- К.: Аграрна наука, 1998.- № 29.- С. 105-109.

184. Шеремета В.І. Стимуляція суперовуляції у корів-донорів з використанням біологічно активного препарату " Глютам" // Науковий вісник Національного аграрного університету.- 1998.-№ 4.- С. 10-13.
185. Armstrong D.T., Oplavsky M.A., Biological characterization of a pituitary FSH preparation with reduced LH activity // Theriogenology.-1986.- 25, № 1 С. 135.
186. Кобулей Д.Э., Отава А.М., Сливчук Ю.И., Смолянинов Б.В., Розгони И.И. Содержание общих липидов в гонадах и печени телок в условиях суперовуляции при трансплантации эмбрионов // Науч.- произв. конф. "Нов. методы селекции и биотехнол. в животновод." Ч.2 Репрод., популяц. генет. и биотехнол. / Респ. произв.-науч. асоц. по внедрению науч.-техн. прогреса в животновод. "Україна".- К.,1991.-С. 52-53.
187. Ковалив Л.Н., Розгони И.И. Влияние гонадотропных препаратов на неко-торые показатели белкового обмена в организме телок и воспроизводительную способность коров // Докл. АН УССР.-1981.-Б.- №2.-С.75-78.
188. Pivko J., Majerciak P. Histologicky a histochemicky obraz vajecnikov superovulovanych (PMSG/hcg) a synchronyzovanych (PGF_{2α}) jalovic // Ved. pr. Vysk. Ustavu zivot. Viroby Nitre.-1980.-№ 18.-Р. 111-115.
189. Свитоюс А.Г. Уровень суперовуляции и качество эмбрионов в зависимо-сти от концентрации прогестерона и иммуноглобулинов в крови коров перед гормональной обработкой // Бюл. нуч. работ ВСХНИЛ, ВНИИ животноводства.-1991.-№ 104.-С. 22-26.
190. Шеремета В.І. Оцінка гонадотропних гормонів за рівнем суперовуляції та морфологією яєчників тварин // Розведення і генетика тварин.- К.: Аграрна наука, 1999.- № 30.- С. 81-85.
191. Завертяев Б.П. Биотехнология в воспроизводстве и селекции крупного рогатого скота.- Л.,1989.- 254 с.
192. Буряков Н.П. переваримость фракций углеводов при разном уровне тиосульфата натрия в рационе коров // Докл. Рос. акад. с-х. наук.- 1995.-№ 6.- С. 36-37.
193. Родионов Г.В., Буряков Н.П., Попова И.В. Влияние разного уровня тиосульфата натрия на переваримость питательных веществ рациона телок // ВСХИЗО агропром. комплексу.- М.,1995.- С. 91-93
194. Шеремета В.І. Стимуляція суперовуляції у корів-донорів з використанням біологічно активного препарату " Глютам" // Науковий вісник Національного аграрного університету.- 1998.-№ 4.- С. 10-13.
195. Пат. 22361 А Україна, МПК 6. А 01 К 67/02. Спосіб отримання ембріонів у великої рогатої худоби для трансплантації / Шеремета В.І., Богданов Г.О., Опанасенко В.О., Лущик А.А. .-№ 97020711; Заявл. 18.02.97.; Рішення про видачу 03.03.98.

